

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL**

BRUNO TABARELLI SCHEIDT

**SOBREVIVÊNCIA, TRANSMISSÃO E CONTROLE DE *Microdochium albescens*
EM SEMENTES DE ARROZ IRRIGADO PRODUZIDAS NA REGIÃO DO ALTO
VALE DO ITAJAÍ, SC**

LAGES, SC

2021

BRUNO TABARELLI SCHEIDT

**SOBREVIVÊNCIA, TRANSMISSÃO E CONTROLE DE *Microdochium albescens*
EM SEMENTES DE ARROZ IRRIGADO PRODUZIDAS NA REGIÃO DO ALTO
VALE DO ITAJAÍ, SC**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Trezzi Casa

**LAGES, SC
2021**

**Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da
Biblioteca Setorial do CAV/UDESC, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

Scheidt, Bruno Tabarelli
SOBREVIVÊNCIA, TRANSMISSÃO E CONTROLE DE *MICRODOCHIUM
ALBESCENS* EM SEMENTES DE ARROZ IRRIGADO PRODUZIDAS NA
REGIÃO DO ALTO VALE DO ITAJAÍ, / Bruno Tabarelli Scheidt. - Lages, 2021.94
p.

Orientador: Ricardo Trezzi Casa
Tese (Doutorado) - Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de
Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal,
Lages, 2021.

1. *Oryza sativa*. 2. *Microdochium albescens*. 3. Infecção. 4. Sanidade de
sementes. I. Trezzi Casa, Ricardo. II. Universidade do Estado de Santa Catarina.
Programa de Pós-Graduação. III. Título.

BRUNO TABARELLI SCHEIDT

**SOBREVIVÊNCIA, TRANSMISSÃO E CONTROLE DE *Microdochium albescens*
EM SEMENTES DE ARROZ IRRIGADO PRODUZIDAS NA REGIÃO DO ALTO
VALE DO ITAJAÍ, SC**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Produção Vegetal.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: _____
Prof. Dr. Ricardo Trezzi Casa
Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC)

Membro: _____
Prof. Ph.D. José da Cruz Machado
Universidade Federal de Lavras (UFLA)

Membro: _____
Pesquisadora Dra. Meyrielle Pires de Camargo
Bayer Crop Science

Membro: _____
Prof. Ph.D. Luís Sangoi
Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC)

Membro: _____
Prof. Dr. Fábio Nascimento
Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC)

Lages, 26 de julho de 2021

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida.

À minha vó (Terezinha Pinho Tabarelli), pelo amor e pelo apoio em minha carreira acadêmica.

Ao meu amigo e orientador Dr. Ricardo Trezzi Casa por todo o conhecimento repassado e pela amizade.

A toda equipe do Laboratório de Fitopatologia pela amizade e ajuda durante esses anos.

À Universidade do Estado de Santa Catarina pela oportunidade do doutorado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela concessão da bolsa.

A cooperativa CRAVIL pelo envio das amostras de arroz irrigado e pela parceria.

Aos amigos, familiares e a todos que de alguma forma contribuíram para a minha formação.

A minha namorada por todo o apoio e companheirismo durante todos esses anos.

Se o dinheiro for a sua esperança de independência, você jamais a terá. A única segurança verdadeira consiste numa reserva de sabedoria, de experiência e competência.

Henry Ford

RESUMO

As sementes utilizadas para o cultivo de arroz irrigado no estado de Santa Catarina (SC) raramente apresentam acompanhamento da qualidade da sanidade. O primeiro estudo teve como objetivo quantificar e identificar os principais fungos patogênicos associados à semente de arroz produzidas no sistema de cultivo pré-germinado na Região do Alto Vale do Itajaí. Foram analisadas sementes de arroz de 479 lotes, produzidas nas safras 2015/16 (139), 2016/17 (169) e 2017/18 (171). As sementes de cada amostra foram submetidas ao teste de sanidade em meio de cultura batata-sacarose-ágar + Antibiótico (BSA + A), mantidas em câmaras de crescimento por sete a dez dias à 25°C e fotoperíodo de 12 horas. O principal fungo detectado foi *M. albescens*, com 100% de prevalência e 54,9% de incidência média, nas três safras. Paralelamente, num segundo estudo, foi feita a confirmação de *M. albescens* pela caracterização molecular de isolados do fungo prevalentes nas sementes infectadas. O DNA genômico foi extraído de colônias do fungo utilizando o kit de purificação de DNA genômico Wizard® de acordo com os protocolos do fabricante. Foram analisadas as regiões ITS, BTUB e RPB2. Pesquisas megablast foram realizadas no National Center for Biotechnology Information (NCBI) para identificar as sequências. As sequências foram alinhadas manualmente no programa MEGA X. 10.2.6. As árvores iniciais para a busca heurística foram obtidas automaticamente pela aplicação dos algoritmos Neighbour-Join e BioNJ. O terceiro estudo teve como objetivo quantificar a viabilidade de *M. albescens* em sementes de arroz armazenadas na entressafra e também determinar a localização do fungo nas principais estruturas da semente. As sementes foram mensalmente coletadas e enviadas ao laboratório para a realização do teste de sanidade demonstrando que *M. albescens* mantém 77,8% de viabilidade nas sementes após nove meses de armazenamento. Comprovou-se que o fungo é detectado em 48% na lema, 43,7% na pálea, 24,7% no endosperma e 20,7% no embrião. O quarto estudo teve como objetivo quantificar a transmissão de *M. albescens* de sementes naturalmente infectadas para plântulas de arroz simulando mesmo sistema de cultivo pré-germinado. As plântulas foram cuidadosamente arrancadas destacando-se coroa, coleóptilo e primeira folha com posterior teste de sanidade. O fungo *M. albescens* foi transmitido assintomaticamente numa taxa de 39,3%, 25,8% e 5,4%, respectivamente para coroa, coleóptilo e primeira folha, considerando a média de

quatro cultivares de arroz. O quinto estudo teve como objetivo avaliar o efeito da incidência do fungo *M. albescens* na qualidade fisiológica das sementes de arroz. Os lotes foram submetidos ao teste de sanidade de sementes, identificando-se incidência superior a 40% e igual ou inferior a 40%, totalizando 24 lotes de sementes. Foram avaliados germinação de semente, teste de envelhecimento acelerado, emergência de plantas em casa de vegetação, índice de emergência, velocidade de emergência, comprimento de parte aérea, comprimento de raiz e massa seca. Comprovou-se que o nível de incidência do patógeno na semente interfere negativamente nos atributos de qualidade fisiológica. O sexto estudo teve como objetivo avaliar a eficiência do tratamento de sementes com fungicidas no controle de *M. albescens*. As sementes tratadas foram submetidas ao teste de sanidade em meio BSA e ao teste de germinação. Fluazinam + tiofanato metílico e metalaxil-M + tiabendazol + fludioxonil apresentaram controle de *M. albescens* superior a 80% em ambos os sistemas de cultivo, garantindo germinação das sementes acima de 90%.

Palavras-chave: *Oryza sativa*. Sanidade de sementes. Fungo. Viabilidade. Transmissão. Tratamento de sementes.

ABSTRACT

Seeds used for the cultivation of irrigated rice in the state of Santa Catarina (SC) rarely show health quality monitoring. The first study aimed to quantify and identify the main pathogenic fungi associated with rice seed produced in the pre-germinated cultivation system in the Alto Vale do Itajaí region. Rice seeds from 479 lots, produced in the 2015/16 (139), 2016/17 (169) and 2017/18 (171) crops were analyzed. The seeds of each sample were submitted to the health test in potato-sucrose-agar + antibiotic (PSA+A) culture medium, kept in growth chambers for seven to ten days at 25°C and 12-hour photoperiod. The main fungus detected was *M. albescens*, with 100% prevalence and 54.9% average incidence, in the three harvests. At the same time, in a second study, *M. albescens* was confirmed by molecular characterization of isolates of the fungus prevalent in infected seeds. Genomic DNA was extracted from fungal colonies using the Wizard® Genomic DNA Purification Kit according to the manufacturer's protocols. The ITS, BTUB and RPB2 regions were analyzed. Megablast searches were performed at the National Center for Biotechnology Information (NCBI) to identify the sequences. The sequences were manually aligned in the MEGA X program. 10.2.6. The initial trees for the heuristic search were obtained automatically by applying the Neighbour-Join and BioNJ algorithms. The third study aimed to quantify the viability of *M. albescens* in rice seeds stored in the off-season and also to determine the location of the fungus in the main structures of the seed. Seeds were collected monthly and sent to the laboratory to carry out the health test, demonstrating that *M. albescens* maintains 77.8% viability in the seeds after nine months of storage. It was found that the fungus is detected in 48% in the lemma, 43.7% in the palea, 24.7% in the endosperm and 20.7% in the embryo. The fourth study aimed to quantify the transmission of *M. albescens* from naturally infected seeds to rice seedlings simulating the same pre-germinated cultivation system. The seedlings were carefully pulled out, highlighting the crown, coleoptile and first leaf, with a subsequent health test. The fungus *M. albescens* was transmitted asymptotically at a rate of 39.3%, 25.8% and 5.4%, respectively for crown, coleoptile and first leaf, considering the average of four rice cultivars. The fifth study aimed to evaluate the effect of the incidence of the fungus *M. albescens* on the physiological quality of rice seeds. The lots were submitted to the seed health test, identifying an incidence greater than 40% and equal to or less

than 40%, totaling 24 seed lots. Seed germination, accelerated aging test, plant emergence in a greenhouse, emergence index, emergence speed, shoot length, root length and dry mass were evaluated. It was proven that the level of incidence of the pathogen in the seed interferes negatively in the attributes of physiological quality. The sixth study aimed to evaluate the efficiency of seed treatment with fungicides to control *M. albescens*. Treated seeds were submitted to the health test in BSA medium and to the germination test. Fluazinam + methyl thiophanate and metalaxyl-M + thiabendazol + fludioxonil showed control of *M. albescens* above 80% in both cultivation systems, ensuring seed germination above 90%.

Keywords: *Oryza sativa*. Seed health. Fungi. Viability. Transmission. Seed treatment.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Reverso de uma placa de Petri mostrando a formação e a coloração de colônias do fungo *Microdochium albescens* a partir de sementes de arroz irrigado plaqueadas em meio de cultura contendo batata-sacarose-ágar, Lages 2018..... 30
- Figura 2 - Resultado da análise de eletroforese para detecção molecular dos isolados de *Microdochium albescens* referente as regiões BTUB, ITS e RPB2. Lages, SC, 2020..... 43
- Figura 3 - Árvore filogenética bayesiana inferida a partir dos dados de sequência de DNA da região BTUB de espécies de *Microdochium*. Os nomes das espécies são mostrados ao direito da árvore. A árvore foi enraizada com *Microdochium tainanense*.....44
- Figura 4 - Árvore filogenética bayesiana inferida a partir dos dados de sequência de DNA da região ITS de espécies de *Microdochium*. Os nomes das espécies são mostrados ao direito da árvore. A árvore foi enraizada com *Microdochium sorghi*.....46
- Figura 5 - Árvore filogenética bayesiana inferida a partir dos dados de sequência de DNA da região RPB2 de espécies de *Microdochium*. Os nomes das espécies são mostrados ao direito da árvore. A árvore foi enraizada com *Microdochium sorghi*.....48
- Figura 6 - Detalhe da Lema, Pálea, Endosperma e Embrião separados para avaliação da incidência de *Microdochium albescens*, Lages 2018.....54
- Figura 7 - Incidência média de *Microdochium albescens* em lema, pálea, endosperma e embrião de semente de arroz considerando os cultivares SCS121 CL e SCS122 Miura.....58
- Figura 8 - Detalhe da coroa, coleóptilo e plúmula separados para avaliação da transmissão de *Microdochium albescens*, Lages 2018.....62
- Figura 9 - Detalhe das sementes de arroz tratadas com fungicidas, Lages 2018.....79

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Incidência média de fungos associados a sementes de cultivares de arroz irrigado produzidas na região do Alto Vale do Itajaí, Estado de Santa Catarina. Lages, 2018.....	31
Tabela 2 - Prevalência média de fungos associados a sementes de cultivares de arroz irrigado produzidas na Região do Alto Vale do Itajaí, Estado de Santa Catarina. Lages, 2021.	33
Tabela 3 - Viabilidade de <i>Microdochium albescens</i> em sementes de arroz irrigado durante o armazenamento nas Unidades de Processamento de Sementes da Cooperativa CRAVIL de Rio do Sul - SC.....	56
Tabela 4 - Incidência de <i>Microdochium albescens</i> em sementes e taxa de transmissão do fungo da semente para plântulas de cultivares de arroz irrigado. Lages, SC, 2018.....	64
Tabela 5 - Germinação, Vigor pelo envelhecimento acelerado, emergência, massa fresca, comprimento de parte aérea, comprimento de raiz, índice de velocidade de emergência e velocidade de emergência de sementes infectadas pelo fungo <i>Microdochium albescens</i>	73
Tabela 6 - Porcentagem de germinação de sementes de arroz das cultivares SCS121 CL, SCS122 CL, Epagri 109 e SCS116 Satoru, submetidas a diferentes tratamentos de sementes.	80
Tabela 7 - Percentual de incidência de <i>Microdochium albescens</i> (%) com diferentes tratamentos de sementes de arroz pré-germinado e de sequeiro das cultivares SCS121 CL, Epagri 109, SCS116 Satoru e SCS122 Miura.....	82
Tabela 8 - Percentual de controle de <i>Microdochium albescens</i> com diferentes tratamentos de sementes de arroz das cultivares SCS121 CL, Epagri 109, SCS116 Satoru e SCS122 Miura, nos sistemas de cultivo, sequeiro e pré-germinado.	83

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	19
2	CAPÍTULO 1 - INCIDÊNCIA E PREVALÊNCIA DE FUNGOS EM SEMENTES DE ARROZ IRRIGADO PRODUZIDAS NO SISTEMA DE CULTIVO PRÉ-GERMINADO NA REGIÃO DO ALTO VALE DO ITAJAÍ, SC.	26
2.1	RESUMO	26
2.2	ABSTRACT	26
2.3	INTRODUÇÃO	27
2.4	MATERIAL E MÉTODOS.....	28
2.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
2.6	CONCLUSÕES.....	36
3	CAPÍTULO 2 - CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE ISOLADOS DE <i>MICRODOCHIUM ALBESCENS</i> ORIUNDOS DE LAVOURA DE ARROZ IRRIGADO PRODUZIDAS NO ALTO VALE DO ITAJAÍ.....	37
3.1	RESUMO	37
3.2	ABSTRACT	38
3.3	INTRODUÇÃO	38
3.4	MATERIAL E METÓDOS.....	40
3.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
3.6	CONCLUSÕES.....	49
4	CAPÍTULO 3 - VIABILIDADE E LOCALIZAÇÃO DE <i>MICRODOCHIUM ALBESCENS</i> EM SEMENTES DE ARROZ IRRIGADO PRODUZIDAS NO SISTEMA DE CULTIVO PRÉ-GERMINADO.....	50
4.1	RESUMO	50
4.2	ABSTRACT	51
4.3	INTRODUÇÃO	51
4.4	MATERIAL E MÉTODOS.....	52
4.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
4.6	CONCLUSÕES.....	58
5	CAPÍTULO 4 - TRANSMISSÃO DE <i>MICRODOCHIUM ALBESCENS</i> DE SEMENTES PARA PLÂNTULAS DE ARROZ IRRIGADO NO SISTEMA DE CULTIVO PRÉ-GERMINADO.....	59
5.1	RESUMO	59
5.2	ABSTRACT	59
5.3	INTRODUÇÃO	60

5.4	MATERIAL E MÉTODOS.....	61
5.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	63
5.6	CONCLUSÕES.....	66
6	CAPÍTULO 5 - EFEITO DA INCIDÊNCIA DO FUNGO <i>MICRODOCHIUM ALBESCENS</i> NA QUALIDADE FISIOLÓGICA DAS SEMENTES DE DIFERENTES CULTIVARES DE ARROZ IRRIGADO.....	66
6.1	RESUMO	66
6.2	ABSTRACT	67
6.3	INTRODUÇÃO	68
6.4	MATERIAL E MÉTODOS.....	69
6.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	72
6.6	CONCLUSÕES.....	75
7	CAPÍTULO 6 - CONTROLE DE <i>MICRODOCHIUM ALBESCENS</i> EM TRATAMENTO DE SEMENTES DE ARROZ IRRIGADO NO SISTEMA DE CULTIVO PRÉ-GERMINADO E SEQUEIRO.....	75
7.1	RESUMO	75
7.2	ABSTRACT	76
7.3	INTRODUÇÃO	76
7.4	MATERIAL E MÉTODOS.....	78
7.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	80
7.6	CONCLUSÕES.....	85
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS	85
9	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	86

1 INTRODUÇÃO GERAL

O arroz (*Oryza sativa* L.) teve sua origem muito discutida entre os pesquisadores, pois não se sabe ao certo se é originário da Índia ou da China. Segundo a hipótese monofilética que se refere a indivíduos com os mesmos ancestrais, ou seja, um único local de origem propõe que a domesticação ocorreu em lugares como a Índia (nas províncias de Bengala e Assam), Mianmar, China e a região das montanhas do sudoeste da Ásia. Entretanto a teoria polifilética defende que tenha ocorrido em vários locais e de forma independente, como nas planícies do rio Ganges na Índia, norte da Tailândia, Laos, norte do Vietnã, superior da Burma e o sul e sudeste da China (MATSUO, 1997).

No Brasil a espécie foi introduzida pelas embarcações dos colonizadores em 1500, mas o seu cultivo em território nacional foi relatado após 1530, na capitania de São Vicente. Em 1904, em Pelotas, Rio Grande do Sul, surgiu a primeira lavoura empresarial a qual já dispunha de sistema de irrigação. A partir da década de 1990 passou a ter uma grande dispersão territorial (PEREIRA, 2002).

O arroz é uma espécie anual, pertencente à família das poáceas, ao gênero *Oryza*, classificada dentro do grupo de plantas com sistema fotossintético C3, sendo a mesma adaptada ao ambiente aquático. Porém esta adaptação ocorreu devido à presença de aerênquima no colmo e nas raízes da planta, possibilitando a passagem de oxigênio do ar para a camada da rizosfera (SOSBAI, 2018).

Este cereal é o alimento básico para grande parte dos seres humanos, estando presente no grupo da base da cadeia alimentar em muitos países, fornecendo energia, lipídios, proteínas, vitaminas e minerais. Os maiores produtores mundiais de arroz são: China, Índia, Indonésia, Bangladesh, Vietnã, Tailândia, Myanmar, Filipinas, Brasil e Japão (SOSBAI, 2018). É o terceiro cereal mais cultivado no mundo com produção estimada de 769 milhões de toneladas em casca na safra 2020/21, onde o Brasil se destaca como o maior produtor de arroz dentro do bloco Mercosul, com uma área aproximada de 1,7 milhões de hectares, e produção de 11,6 milhões de toneladas (CONAB, 2021).

No Brasil a produção é oriunda dos sistemas de cultivo irrigado e de sequeiro, sendo o sistema irrigado responsável por 70% da produção nacional onde aproximadamente 90% do arroz irrigado do país é cultivado nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, nas chamadas terras baixas (CONAB, 2021). Esse índice de produção nos dois estados vem mantendo-se constante desde 2004/05 (SOSBAI, 2018).

No estado de Santa Catarina a produção de arroz concentra-se no litoral. A maior área se localiza no Litoral Sul do estado (61,9%), seguido da região Médio/Baixo Vale do Itajaí e Litoral Norte (25,2%). A região do Alto Vale do Itajaí contribui com 9% da área e 94% da produção (SOSBAI, 2018). Na safra 2020/21, o estado catarinense cultivou uma área total de aproximadamente 149 mil hectares, totalizando uma produção de 1,3 milhões de toneladas (CEPA/EPAGRI, 2021).

Segundo o SIGEF, 2021 (Sistema de Gestão Fundiária) na safra 2020/21 o estado de Santa Catarina foi o segundo maior produtor de sementes de arroz do Brasil com uma área de 3.842,67 ha, e uma produção de 33.144,70 toneladas, ficando atrás somente do estado do Rio Grande do Sul que cultivou uma área de 16.938,82 ha com uma produção de 235.473,10 toneladas.

As condições climáticas que favorecem o cultivo do arroz são também propícias à ocorrência de doenças. A ocorrência de doenças restringe a produção de grãos e sementes de arroz. No estado de Santa Catarina, brusone (*Pyricularia oryzae* Cav.) ainda é considerada a principal doença, no entanto, há relatos crescentes da intensidade de mancha parda (*Bipolaris oryzae* Breda de Haan), escaldadura das folhas (*Microdochium albescens* Hern. Restr. & Crous), mancha das glumas (complexo de patógenos), queima das bainhas (*Rhizoctonia solani* Khun), mancha das bainhas (*Rhizoctonia oryzae* Riker & Gooch), podridão das bainhas (*Sarocladium oryzae*) e mancha estreita (*Cercospora janseana* Racib.) (MIURA, 2002; SOSBAI, 2018; SILVA-LOBO et al., 2019).

De acordo com o Departamento Técnico da cooperativa Cravil do município de Rio do Sul escaldadura tem sido constatada em alta intensidade nas lavouras de arroz irrigado e conseqüentemente o seu agente causal detectado no teste de sanidade de sementes no estado de Santa Catarina (SCHEIDT et al, 2020a).

A escaldadura das folhas é causada pelo fungo *Microdochium albescens* (Hern. Restr. & Crous) sinônimos, *Gerlachia oryzae* (Hashioka & Yokogi),

Monographella albescens (Thümen), *Microdochium oryzae* (Hashioka & Yokogi) e *Rhynchosporium oryzae* (Hashioka & Yokogi) (INDEX FUNGORUM, 2021).

O gênero *Microdochium* inclui cerca de 20 espécies, mas apenas algumas delas são bem conhecidos e têm sido estudadas (SEIFERT et al., 2011). Segundo Hernández-Restrepo et al. (2016), houve seis novas combinações em *Microdochium* como *M. albescens*, *M. consociatum*, *M. fusariisporum*, *M. maydis*, *M. opuntiae* e *M. stevensonii*.

Monographella por muitos anos foi considerada a forma sexual de *Microdochium*. No entanto, com a implementação da nova nomenclatura foi mantido só um nome. No entanto, *Microdochium* tem mais espécie, é mais comumente encontrado, e o nome é mais frequentemente usado na literatura, desta forma com a nova nomenclatura utiliza-se *Microdochium albescens* (HERNÁNDEZ-RESTREPO, et al., 2016).

Estudos anteriores conectaram *Microdochium* com a família *Amphisphaeriaceae* (PARKINSON et al. 1981, SAMUELS & HALLET 1983, VONARX 1984, JAKLITSCH & VOGLMAYR 2012). *Amphisphaeriaceae* é uma família heterogênea que possui morfos assexuados semelhantes à pestalotiopsis caracterizados por células conidiogênicas holoblásticas que produzem conídios septados, marrons ou hialinos com apêndices em ambas as extremidades (TANAKA et al. 2011, MAHARACHCHIKUMBURA et al. 2014). No entanto em um estudo realizado por Hernández-Restrepo et al., (2016), *Microdochium* formou um clado separado em Xylariales distinto de outras famílias. Com base nesses resultados de análises filogenéticas, *Microdochium* correspondem a uma nova família denominada como *Microdochiaceae*. Esta nova família é caracterizada por morfos assexuados que produzem células conidiogênicas poliblásticas, simpodiais ou anelídicas com conídios hialinos sem apêndices e morfos sexuais do tipo monographella.

A caracterização morfológica é útil, porém apresenta limitações devido ao baixo número de caracteres passíveis de serem analisados, da alta instabilidade e da dependência da composição do meio utilizado, das condições de incubação e das variações intrínsecas ao patógeno (FUNGARO, 2000). Contudo para a identificação precisa das espécies de *Microdochium* é necessário realizar análise molecular (HERNÁNDEZ-RESTREPO et al., 2016).

Técnicas moleculares desenvolvidas a partir da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), como o sequenciamento de DNA, têm sido ferramenta útil na identificação de vários organismos, dentre eles os fungos. Entre os marcadores moleculares utilizados para este propósito destaca-se o sequenciamento da região ITS (*Internal Transcribed Spacer*). Essa região é altamente conservada intraespecificamente, mas variável entre diferentes espécies, o que possibilita a distinção ao nível específico (FUNGARO, 2000).

Apesar do uso frequente da região ITS-rDNA para identificação molecular de fungos, o uso individual dessa região nem sempre distingue suficientemente espécies fúngicas de níveis taxonômicos mais elevados, devido às limitações, como dificuldades no alinhamento de sequências (AVIS et al., 2006; KISS, 2012; LINDNER et al., 2013). Dessa forma, regiões gênicas mais conservadas, codificadoras de proteínas, também devem ser consideradas (GLASS et al., 2013).

O gene que codifica a segunda maior subunidade proteica da RNA polimerase II (RPB2) é considerado um marcador alternativo adequado para estudos filogenéticos de fungos que apresentam níveis taxonômicos mais elevados. É um gene bastante conservado, apresenta cópia única em fungos, fragmentos de tamanho grande, sequências de nucleotídeos facilmente alinháveis e taxa de evolução conveniente para estudos filogenéticos mais aprofundados (MATHENY, 2005; VĚTROVSKÝ et al., 2016).

O gene da β -tubulina está entre os mais proeminentes genes utilizados para o diagnóstico fúngico. Contudo, os bancos de dados para sequências desse gene não são tão abundantes quanto do DNA ribossomal (BRUNNER et al., 2007). Os genes para β -tubulina estão recebendo maior atenção na investigação de relações evolutivas, pois as tubulinas apresentam um alto grau de conservação em nível de aminoácidos e nucleotídeos, porém um alto grau de variabilidade nas regiões intrônicas (EINAX & VOIGT, 2003; LOPPNAU & BREUIL, 2003).

O sintoma característico da escaldadura se manifesta nas extremidades apicais das folhas mais velhas, inicialmente com o aparecimento de manchas de coloração verde-oliva, sem margens bem definidas que evoluem formando sucessões de faixas concêntricas, com alternância das cores marrom-clara e escura. As lesões coalescem, causando necrose e morte da área foliar afetada. Como consequência de redução da área foliar pode haver redução do crescimento das

plantas afetando a quantidade e a qualidade dos grãos. As plantas afetadas apresentam amarelecimento generalizado com as pontas das folhas secas (FILIPPI et al., 2005). Outro tipo de sintoma, que se manifesta quando as condições climáticas são menos favoráveis, é caracterizado por pontuações de cor marrom ao longo das folhas, semelhante aos sintomas iniciais da mancha de grãos (PRABHU et al., 1995).

As condições climáticas favoráveis ao desenvolvimento do patógeno são temperatura média entre 24°C e 28°C, períodos prolongados de orvalho, alta densidade de plantas e adubação nitrogenada em excesso (OU, 1985; GROTH, 1992).

A escaldadura tem potencial de reduzir significativamente a produção pela destruição da área foliar, sendo facilmente encontrada em percentuais variando de 20 a 50% (RIBEIRO, 1996).

Muitos patógenos da cultura do arroz sobrevivem e são disseminados pelas sementes (AMARAL, 1987). Segundo Mew & Gonzalez (2002), 55 fungos estão associados a sementes de arroz, dentre eles se destacam: *Alternaria padwickii* (Ganguly), *B. oryzae*, *C. janseana*, *Fusarium moniliforme* (Sheldon), *M. albescens*, *P. oryzae*, *Sarocladium oryzae* (Sawada), *Phoma sorghina* (Sacc.), e *Tilletia barclayana* ((Bref.) Sacc. & Syd) (MEW & GONZALES, 2002).

O fungo *M. albescens* pode sobreviver associado às sementes (OU, 1985; GROTH, 1992) e aos restos culturais de arroz (FILIPPI et al., 2005). O fungo *M. albescens* pode infestar ou infectar sementes de arroz (SINGH e SEN GUPTA, 1981; MIA e SAFEEULLA, 1984; THOMAS, 1984; MIA et al., 1986). No Brasil, no estado do Rio Grande do Sul, foi relatado em associação à semente de arroz irrigado com incidência variando de 6 a 31% (média 18%) (FRANCO et al., 2001) e 1 a 33% (média 4,99%) (FARIAS et al., 2007). Em outro estudo realizado no estado de Santa Catarina foi relatado alta incidência média (55%) de *M. albescens* em sementes de arroz irrigado (SCHEIDT et al., 2020a).

Microdochium albescens infecta folhas e bainhas, porém a infecção de sementes também é importante porque reduz a germinação de sementes e vigor das plântulas (SINGH e GUPTA, 1985). Segundo Malavolta et al., (2002) os danos

causados por *M. albescens*, devem-se a redução do número de semente por panícula e no seu peso, refletindo na qualidade das sementes cultivadas.

Sob condições ambientais *M. albescens* pode sobreviver de três a 18 meses em sementes de arroz armazenadas (MIA et al., 1987; SINGH e GUPTA, 1986), entretanto pode sobreviver até 11 anos a temperatura de 5 °C (MIA et al., 1985). Todas as partes da semente de arroz são locais de infecção para *M. albescens* (KIM et al., 1984; MIA et al., 1986), porém a localização precisa do patógeno na semente pode ajudar a determinar a eficácia dos tratamentos de sementes (FAIAD et al., 1993).

As sementes são consideradas fonte de inóculo primário (OU, 1985; WEBSTER & GUNNELL, 1992), e a transmissão do fungo em cultivo de sequeiro ocorre através de sementes infectadas provocando descoloração nas plântulas (FILIPPE et al., 2005; GUTIÉRREZ, 2008). Contudo não há informações sobre a transmissão no sistema de cultivo pré-germinado.

Em culturas como soja e milho, o tratamento de sementes (TS) vem sendo utilizado visando o controle de fungos, associados à semente, entretanto, em arroz esta prática não ocorre com a mesma frequência, principalmente no sistema de cultivo pré-germinado, onde não constam informações e indicações (SOSBAI, 2018).

O TS de arroz visa controlar fungos infectando e infestando sementes, fungos de solo e também insetos em caso do uso de inseticida em adição ao fungicida, protegendo, desta forma, a plântula nos estágios iniciais da cultura. É fundamental o seu uso para assegurar a germinação, emergência, formação da plântula, e consequente população de plantas, associado ao rendimento da cultura (MENTEN & MORAES, 2010).

O TS é considerado uma das práticas culturais de baixo custo no controle de patógenos em arroz de terras altas (KIMATI et al., 1997), porém, não constam informações na literatura sobre o efeito de fungicidas no TS visando o controle de *M. albescens* no sistema de cultivo de arroz pré-germinado (SOSBAI, 2018).

Apesar disso, atualmente a importância da qualidade sanitária das sementes de arroz está subestimada devido à escassez de estudos que comprovem o real impacto sobre a qualidade fisiológica e o desempenho das plântulas. Portanto, o conhecimento do efeito do inóculo na semente é importante para conhecimento do

nível de tolerância do patógeno pela semente e quanto compromete o desempenho das plântulas.

Partindo desses pressupostos, o presente estudo teve por objetivos: i) Identificar e quantificar fungos infectando sementes de arroz produzidas no Alto Vale do Itajaí, SC; ii) Caracterizar de forma molecular os isolados de *M. albescens* oriundos das sementes de arroz irrigado produzidas na Região do Alto Vale do Itajaí; iii) Quantificar a viabilidade de *M. albescens* em sementes de arroz irrigado armazenadas durante o período da entressafra no estado de Santa Catarina e quantificar a sua incidência nas estruturas da semente; iv) Quantificar a transmissão de *M. albescens* de sementes naturalmente infectadas para coroa, coleótilo e plúmula da plântula em cultivares de arroz irrigado no sistema de cultivo pré-germinado; v) Avaliar o efeito da incidência do fungo *M. albescens* na qualidade fisiológica das sementes de diferentes cultivares de arroz irrigado; vi) Avaliar a eficiência de fungicidas no tratamento de sementes de arroz pré-germinado e sequeiro no controle de *M. albescens*.

2 CAPÍTULO 1 - INCIDÊNCIA E PREVALÊNCIA DE FUNGOS EM SEMENTES DE ARROZ IRRIGADO PRODUZIDAS NO SISTEMA DE CULTIVO PRÉ-GERMINADO NA REGIÃO DO ALTO VALE DO ITAJAÍ, SC.

2.1 RESUMO

Fungos em sementes de arroz irrigado podem afetar sua qualidade fisiológica e constituir-se em fonte de inóculo para doenças. O objetivo deste trabalho foi identificar e quantificar fungos infectando sementes de arroz irrigado no sistema de cultivo pré-germinado na Região do Alto Vale do Itajaí, Santa Catarina, Brasil. Foram analisados 479 lotes de sementes de arroz de diferentes cultivares durante as safras 2015/16, 2016/17 e 2017/18. As sementes de cada amostra foram desinfestadas em hipoclorito de sódio (1%), enxaguadas em água deionizada estéril e submetidas ao teste de sanidade usando meio de cultura batata-sacarose-ágar + Antibiótico (BSA+A). As sementes foram incubadas por sete dias em câmara de crescimento a $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas. Foram consideradas infectadas as sementes com presença de colônia e/ou estruturas dos fungos. O principal fungo detectado nas três safras foi *Microdochium albescens*, com 54,9% de incidência média, seguido de *Alternaria padwickii* com 7,7%, *Bipolaris oryzae* com 3,3% e *Curvularia* sp. com 3,1%.

Palavras-chave: *Oryzae sativa*, fungos, sanidade de sementes, *Microdochium albescens*.

2.2 ABSTRACT

Fungi in irrigated rice seeds can affect their physiological quality and constitute a source of inoculum for diseases. The aim of this work was to identify and quantify fungi infecting irrigated rice seeds in the pre-germinated cropping system in the Alto Vale do Itajaí region, Santa Catarina, Brazil. 479 rice seed lots of different cultivars were analyzed during the 2015/16, 2016/17 and 2017/18 harvests. The seeds of each sample were disinfected in sodium hypochlorite (1%), rinsed in sterile deionized water and subjected to the health test using potato-sucrose-agar + antibiotic

(PSA+A) culture medium. The seeds were incubated for seven days in a growth chamber at $25 \pm 2^\circ\text{C}$ and a 12-hour photoperiod. Seeds with the presence of colony and / or fungi structures were considered infected. The main fungus detected in the three harvests was *Microdochium albescens*, with 54.9% of average incidence, followed by *Alternaria padwickii* with 7.7%, *Bipolaris oryzae* with 3.3% and *Curvularia* sp. with 3.1%.

Keywords: *Oryzae sativa*, fungi, seed health, *Microdochium albescens*

2.3 INTRODUÇÃO

A cultura do arroz tem grande importância socioeconômica para o estado de Santa Catarina que é o segundo maior produtor nacional do grão e um dos principais produtores de sementes (SOSBAI, 2018; CONAB, 2021).

As condições climáticas que favorecem o cultivo do arroz são também propícias à ocorrência de doenças. A ocorrência de doenças restringe a produção de grãos e sementes de arroz. No estado de Santa Catarina, brusone (*Pyricularia oryzae* Cav.) ainda é considerada a principal doença, no entanto, há relatos crescentes da intensidade de mancha parda (*B. oryzae* Breda de Haan), escaldadura das folhas (*M. albescens* Thüm. Hern. Restr. & Crous), mancha das glumas (complexo de patógenos), queima das bainhas (*Rhizoctonia solani* Khun), mancha das bainhas (*Rhizoctonia oryzae* Riker & Gooch), podridão das bainhas (*Sarocladium oryzae*) e mancha estreita (*C. janseana* Racib.) (MIURA, 2002; SOSBAI, 2018; SILVA-LOBO et al., 2019).

A planta de arroz em alguma fase de desenvolvimento está sujeita à infecção por patógenos que reduzem tanto a produtividade quanto a qualidade de grãos. Dentre alguns danos diretos, ocasionados pelas doenças no arroz, tem-se a redução do estande de plantas, redução geral na eficiência produtiva das plantas, grãos manchados e menor número e/ou tamanho de grão (MIURA, 2002).

Entre os principais fungos patogênicos associados à semente destacam-se: *A. padwickii* (Ganguly), *B. oryzae*, *C. janseana*, *Fusarium moniliforme* (Sheldon), *M.*

albescens, *P. oryzae*, *S. oryzae* (Sawada), *Phoma sorghina* (Sacc.), e *Tilletia barclayana* ((Bref.) Sacc. & Syd) (MEW & GONZALES, 2002).

O objetivo deste trabalho foi identificar e quantificar fungos infectando sementes de cultivares de arroz irrigado no sistema de cultivo pré-germinado na Região do Alto Vale do Itajaí, Santa Catarina, Brasil.

2.4 MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas amostras de sementes de arroz irrigado de 479 lotes das cultivares SCS 121 CL (165), SCS122 Miura (85), SCS116 Satoru (79), EPAGRI 109 (58), SCS BRS TioTaka (49), SCS118 Marquês (22), SCS117 CL (11) e Primoriso CL (10) provenientes de áreas de sementes dos municípios de Agronômica, Rio do Sul, Taió, Pouso Redondo, Lontras, Agrolândia, Trombudo Central e Rio do Oeste, estado de Santa Catarina. As sementes foram produzidas na safra 2015/16, 2016/17 e 2017/18, e beneficiadas pela Cooperativa Cravil de Rio do Sul. As lavouras receberam aplicações de fungicidas conforme a indicação técnica para a cultura (estrobirulina + triazol + benzotiazol), aplicados no emborrachamento tardio e a segunda aplicação 15 dias após (SOSBAI, 2018). Na cooperativa as sementes ficaram armazenadas em sacos de polipropileno de 25 kg e mantidas em armazém de alvenaria com umidade e temperatura ambiente.

As sementes, não tratadas, foram coletadas por responsáveis da cooperativa, identificando as cultivares e os lotes seguindo o padrão de amostragem (Brasil, 2009), sendo enviadas ao Laboratório de Fitopatologia do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, CAV/UEDESC, para serem submetidas aos testes de sanidade.

Para a detecção dos fungos em geral foi utilizado o meio de cultura batata-sacarose-ágar + Antibiótico (BSA+A = 200 mg L⁻¹). As sementes de cada cultivar, lote e local de produção foram desinfestadas com solução de hipoclorito de sódio (1%) durante dois minutos, com posterior enxágue com água destilada e estéril. Todo o processo de desinfestação e semeadura foi realizado em câmara asséptica. Para cada lote foram analisadas quatro repetições de 50 sementes (200 sementes), sendo semeadas 10 sementes por placa de Petri. As sementes foram dispostas em placas de Petri de acrílico (90 mm de diâmetro) e mantidas em câmaras de

crescimento por sete a dez dias à 25°C e fotoperíodo de 12 horas. Na câmara de crescimento além da luz branca também foi utilizada luz negra para estimular a esporulação de alguns fungos. A avaliação dos fungos foi realizada aos sete e dez dias.

Especificamente para a detecção do fungo *P. oryzae* foi utilizado o método de incubação em substrato de papel ou método do papel de filtro (“*blotter test*”) (BRASIL, 2009). Foram selecionados aleatoriamente oito lotes de cada cultivar, totalizando 48 lotes, sendo que nesse método as sementes foram dispostas em caixas de acrílico tipo gerbox, contendo duas camadas de papel filtro umedecido (papel mata borrão). Posteriormente foram colocadas em câmara de crescimento com luz contínua por sete dias a 27°C, mantendo umidade do papel pela adição de água quando necessário. A avaliação foi realizada aos 4 e 7 dias. Nos últimos três dias utilizou-se a luz negra para induzir a esporulação. Para cada lote foram analisadas 200 sementes, sendo semeadas 10 sementes por placa de Petri e 25 sementes por gerbox. Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado para ambos os experimentos.

Foram consideradas infectadas as sementes nas quais foi possível identificar a colônia e/ou estruturas dos fungos sob lupa estereoscópica em aumento de 40 vezes. Para confirmar a presença e identificação do fungo nas sementes foram preparadas lâminas e as mesmas visualizadas em microscópio óptico analisando-se as estruturas fúngicas e comparando com as descrições na literatura (MEW & GONZALES, 2002; BARNETT & HUNTER, 1998).

2.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O fungo patogênico de maior incidência e prevalência associado às sementes, na média das 479 amostras e dos três anos, foi *M. albescens* com 54,9% e 100%, respectivamente (Figura, 1), seguido de *A. padwickii* (7,7% / 90,6%), *B. oryzae* (3,3% / 59,9%), *Curvularia* sp. (3,1% / 66,5%) e *S. oryzae* (2,7% / 49,40%) (Tabela 1 e 2). Resultados similares foram encontrados em cultivares de arroz irrigado em 350 amostras analisadas no estado do Rio Grande do Sul, safras de 1993 a 1998, detectando também os patógenos, *M. albescens* (18,0%), *Alternaria*

sp. (6,3%), *C. lunata*, (4,9%), *B. oryzae* (2,6%) (FRANCO et al., 2001). Em outro estudo também no Rio Grande do Sul, nas regiões de Cachoeirinha, Cachoeira do Sul, Camaquã, Rosário do Sul, Pelotas e Uruguaiana, em 162 lotes de arroz, na safra 2005/06, foram detectados os fungos *Alternaria* sp. (9,61%), *Bipolaris* sp. (9,30%), *Gerlachia* sp. (4,99%) e *Curvularia* sp. (3,81%) (FARIAS et al., 2007).

Figura 1 – Reverso de uma placa de Petri mostrando a formação e a coloração de colônias do fungo *Microdochium albescens* a partir de sementes de arroz irrigado plaqueadas em meio de cultura contendo batata-sacarose-ágar, Lages 2018.



Fonte: Produção do próprio autor (2018).

Tabela 1 - Incidência média de fungos associados a sementes de cultivares de arroz irrigado produzidas na região do Alto Vale do Itajaí, Estado de Santa Catarina. Lages, 2018.

Cultivar	Nº Lotes	Incidência (%)										
		Mic	Alt	Cur	Bip	Sar	Nig	Pen	Asp	Altsp	Cer	Fus
Safrá 2015 / 2016												
SCS121 CL	57	61,9	6,0	6,6	7,3	2,2	0,8	1,1	0,7	0,1	0,2	0,0
SCS116 Satoru	33	72,3	2,9	1,7	1,6	2,2	1,6	1,3	1,2	0,4	0,3	0,0
SCSBRS Tio Taka	17	55,6	7,7	5,7	7,3	2,7	3,0	0,5	0,7	0,9	0,4	0,4
Epagri 109	11	68,1	2,0	2,0	2,5	3,9	1,2	2,1	2,3	1,0	0,0	0,0
SCS117 CL	11	60,5	9,0	3,9	5,1	2,5	1,4	0,4	0,3	0,5	0,4	0,0
SCS118 Marquês	10	57,2	7,6	9,6	3,3	3,7	0,7	1,8	1,8	0,0	0,2	0,0
Média (%)		62,6	5,8	4,9	4,5	2,8	1,4	1,2	1,2	0,5	0,3	0,1
Safrá 2016 / 2017												
SCS121 CL	55	53,0	7,4	3,0	2,7	4,2	0,9	0,6	1,0	0,7	1,2	0,1
SCS116 Satoru	33	50,6	9,1	2,4	2,8	2,7	0,7	1,3	1,9	0,9	0,8	0,2
Epagri 109	31	45,5	11,3	3,0	3,2	3,9	0,6	0,8	1,3	1,5	0,6	0,3
SCSBRS Tio Taka	26	62,7	6,5	2,5	3,4	3,4	0,7	0,5	0,7	1,0	0,5	0,3
SCS122 Miura	12	43,1	11,7	5,6	5,1	7,1	0,0	1,2	2,1	2,3	1,1	0,0
SCS118 Marquês	12	45,3	9,3	3,0	3,3	4,8	1,6	0,4	0,8	1,6	1,1	0,0
Média (%)		50,0	9,2	3,2	3,4	4,3	0,7	0,8	1,3	1,3	0,9	0,2
Safrá 2017 / 2018												
SCS122 Miura	73	53,5	7,2	1,7	1,6	1,1	0,6	0,1	0,0	0,3	1,2	0,0
SCS121 CL	53	51,6	5,9	0,8	3,3	0,5	0,8	0,1	0,2	0,4	1,0	0,1
Epagri 109	16	44,6	14,3	1,7	1,9	0,3	0,7	0,1	0,0	0,8	1,2	0,0
SCS116 Satoru	13	48,9	8,9	1,2	2,6	0,3	0,0	0,2	0,4	0,7	2,5	0,1
Primoriso CL	10	57,7	7,2	1,0	0,9	0,9	0,5	0,2	0,0	0,4	2,8	0,0
SCSBRS Tio Taka	6	56,2	4,5	0,7	2,5	2,2	0,3	0,3	0,0	0,3	1,2	0,0
Média (%)		52,1	8,0	1,2	2,1	0,9	0,5	0,2	0,1	0,5	1,6	0,0
Média Geral (%)		55,0	7,7	3,1	3,3	2,7	0,9	0,7	0,9	0,8	0,9	0,1

Mic - *Microdochium albescens*; Alt - *Alternaria padwiicki*; Cur - *Curvularia* sp.; Bip - *Bipolaris oryzae*; Sar - *Sarocladium oryzae*; Nig - *Nigrospora oryza*; Pen - *Penicillium* spp.; Asp - *Aspergillus flavus*; Alt_{sp} - *Alternaria* sp.; Cer - *Cercospora janseana* e Fus - *Fusarium* sp.

O principal fungo detectado, *M. albescens*, é o agente causal da escaldadura ou queima das folhas na cultura do arroz (SOSBAI, 2018). O fungo foi relatado em associação às sementes de arroz com incidência variando de 6 a 31% (média 18%) (FRANCO et al., 2001) e 1 a 33% (média 4,99%) (FARIAS et al., 2007), de acordo com as cultivares e safras agrícolas avaliadas no estado do Rio Grande do Sul, porém observa-se que sua incidência é inferior aos resultados obtidos neste trabalho (54,9%) com sementes de arroz irrigado produzidas no estado de Santa Catarina. Isto pode ter relação com o método utilizado para detecção do patógeno, pois, nos trabalhos citados anteriormente utilizou-se o método do papel de filtro, e no trabalho aqui apresentado, o teste de sanidade foi realizado em meio de cultura BSA+A. Os meios agarizados são considerados mais eficientes na detecção de *M. albescens* (MISRA et al., 1994). Em outro estudo comparando quatro métodos para detecção de *M. albescens*, o meio BSA foi considerado o segundo mais sensível para detecção do fungo, sendo que o método do papel filtro foi considerado o menos sensível (GUTIERREZ et al., 2009). Já em um estudo realizado por Malavolta (2007), utilizando método de papel filtro nos anos de 2003 e 2004 encontraram uma elevada incidência de *M. albescens*, 24,6 e 29,8%, respectivamente.

O fungo *M. albescens* foi o único com prevalência em 100% dos lotes de sementes analisados nas três safras (Tabela 2). Ao analisar a incidência média do fungo em cada cultivar de arroz constatou-se que a maior incidência ocorreu na SCS116 Satoru com 72,3% na safra 2015/16 e a menor incidência na SCS122 Miura com 43,1% na safra 2016/17. Não há informações sobre reação de resistência dos genótipos para o fungo *M. albescens* na indicação técnica do cultivo do arroz irrigado nos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul (SOSBAI, 2018).

Tabela 2 - Prevalência média de fungos associados a sementes de cultivares de arroz irrigado produzidas na Região do Alto Vale do Itajaí, Estado de Santa Catarina. Lages, 2021.

Cultivar	Nº Lotes	Prevalência (%)										
		Mic	Alt	Cur	Bip	Sar	Nig	Pen	Asp	Altsp	Cer	Fus
Safrá 2015 / 2016												
SCS121 CL	57	100	84,7	66,7	39,4	63,2	36,4	33,3	48,5	21,2	9,1	0,0
SCS116 Satoru	33	100	100	70,6	76,5	57,6	64,7	29,4	23,5	17,7	17,7	0,0
SCSBRS Tio Taka	17	100	100	90,9	45,5	64,7	54,6	36,4	9,1	18,2	18,2	0,4
Epagri 109	11	100	36,4	45,5	54,6	81,8	27,3	54,6	63,6	27,3	9,1	0,0
SCS117 CL	11	100	89,5	89,5	77,2	72,7	26,3	45,6	22,8	8,8	14,0	0,0
SCS118 Marquês	10	100	90,0	100	50,0	70,0	40,0	50,0	40,0	0,0	10,0	0,0
Média (%)		100	83,4	77,2	57,2	68,3	41,6	41,6	34,6	15,5	13,0	0,1
Safrá 2016 / 2017												
SCS121 CL	55	100	89,1	80,0	63,6	63,6	23,6	27,3	36,4	32,7	40,0	3,6
SCS116 Satoru	33	100	90,9	69,7	60,6	45,5	21,2	48,5	42,4	36,4	21,2	6,1
Epagri 109	31	100	92,3	69,2	53,8	38,5	19,2	21,9	19,2	46,2	34,6	7,7
SCSBRS Tio Taka	26	100	96,8	77,4	67,7	58,1	16,1	32,3	45,2	54,8	32,3	9,7
SCS122 Miura	12	100	100	91,7	100	91,7	0,0	58,3	50,0	75,0	33,3	16,7
SCS118 Marquês	12	100	100	91,7	75,0	50,0	50,0	16,2	25,0	50,0	25,0	16,7
Média (%)		100	94,8	79,9	70,1	57,9	21,7	34,1	36,4	49,2	31,1	10,1
Safrá 2017 / 2018												
SCS122 Miura	73	100	86,8	26,4	66,0	18,9	22,6	5,7	7,6	18,9	32,1	5,7
SCS121 CL	53	100	100	53,1	69,2	15,4	23,1	15,4	15,4	30,8	53,8	0,0
Epagri 109	16	100	100	16,6	50,0	0,0	16,7	16,7	0,0	16,7	50,0	0,0
SCS116 Satoru	13	100	93,7	50,0	56,3	12,5	18,8	6,3	0,0	31,3	50,0	0,0
Primoriso CL	10	100	91,8	57,5	45,2	34,3	12,3	6,9	1,4	10,9	49,3	2,7
SCSBRS Tio Taka	6	100	90,0	50,0	30,0	50,0	0,0	10,0	0,0	20,0	90,0	0,0
Média (%)		100	93,7	42,3	52,8	21,9	15,6	10,2	4,1	21,4	54,2	1,4
Média Geral (%)		100	90,6	66,5	59,9	49,4	26,3	28,6	25,0	28,7	32,8	11,6

Mic - *Microdochium albescens*; Alt - *Alternaria padwiicki*; Cur - *Curvularia* sp.; Bip - *Bipolaris oryzae*; Sar - *Sarocladium oryzae*; Nig - *Nigrospora oryza*; Pen - *Penicillium* spp.; Asp - *Aspergillus flavus*; Alt_{sp} - *Alternaria* sp.; Cer - *Cercospora janseana* e Fus - *Fusarium* sp.

O patógeno *A. padwickii*, incluído no grupo dos causadores de manchas nos grãos, obteve valores de incidência média nas três safras de 7,7% e prevalência de 90,6%. A cultivar Epagri 109 foi quem apresentou a menor incidência (2,0%) na safra 2015/16 e também a maior (14,3%) na safra 2017/18. Segundo Ou (1972), o fungo *A. padwickii* é detectado em sementes de arroz em diversos países, incluindo o Brasil, e mais especificamente no estado do Rio Grande do Sul (RIBEIRO, 1989). Franco et al. (2001), avaliando a sanidade de sementes de arroz no Rio Grande do Sul verificaram que a incidência de *Alternaria* sp. variou de 0,4% até 20,6%, porém os autores não denominaram a espécie de *Alternaria*. Malavolta (2007), nos anos de 2003 e 2004 no município de Taubaté, em condições de cultivo irrigado por inundação detectou incidência média de *A. padwickii* de 8,2 e 1,6% nos respectivos anos. Em outro estudo realizado com 388 lotes de sementes de arroz no Egito, Índia, Coreia, Nepal e Tailândia, constatou-se a presença de sementes infectadas com *Trichoconis padwickii* (Sin. *A. padwickii*) em 282 lotes (MATHUR et al., 1972).

O fungo *B. oryzae* apresentou maior incidência média na cultivar SCS121 CL / SCSBRS Tio Taka (7,3%) na safra 2015/16, e menor valor médio na cultivar Primoriso CL (0,9%) na safra 2017/18 (Tabela 1). Entretanto a maior prevalência (100%) foi na safra 2016/17 para cultivar SCS122 Miura, e menor (30%) para cultivar SCSBRS Tio Taka na safra 2017/18 (Tabela 2). Em um estudo realizado por Malavolta (2007), em testes de sanidade de sementes no cultivo inundado obteve uma alta incidência (13,6%) de *B. oryzae* nas sementes, superior ao encontrado neste estudo.

O fungo *Curvularia* sp. obteve o menor valor de incidência média (0,7%) na cultivar SCSBRS Tio Taka na safra 2017/18 e o maior valor (9,6%) na cultivar SCS118 Marquês na safra 2015/16 (Tabela 1). A cultivar com maior prevalência (100%) foi SCS118 Marquês na safra 2015/16 e com menor (16,6%) a Epagri 109 na safra 2017/18 (Tabela 2). Não foi possível identificar a espécie de *Curvularia* uma vez que não foi realizada a caracterização morfológica e molecular. Espécies de *Curvularia* podem ser detectadas em sementes de arroz, entre elas: *C. eragrostidis* (P. Henn) e *C. lunata*, como agentes de descoloração, lesão e, ou, deformação de grãos (LIMA & FURTADO, 2007). Em outro estudo realizado com 377 lotes de sementes de arroz do Egito, Gana, Índia, Irã, Japão, Nepal, Nigéria, Holanda, Filipinas, Portugal, Tailândia e Paquistão Ocidental, foram encontrados 12 diferentes

espécies de *Curvularia*, sendo: *C. eragrostidis*, *C. intermeria*, *C. sidiquii*, *C. oryzae*, *C. lunata*, *C. pallescens*, *C. trifolii*, *C. clavata*, *C. geniculata*, *C. inaequalis*, *C. uncinata* e *C. cymbopogonis* (BENOIT & MATHUR, 1970).

Além destes quatro principais patógenos detectados no teste de sanidade de sementes outros fungos também foram identificados, com incidências médias mais baixas nas três safras, como: *S. oryzae* (2,7%), *Nigrospora oryzae* (0,9%), *Penicillium* spp. (0,7%), *Aspergillus flavus* (0,9%), *Alternaria* sp. (0,8%), *C. janseana* (0,9%) e *Fusarium* sp. (0,1%) (Tabela 1). Esses fungos em sementes de arroz irrigado também foram encontrados em outros trabalhos no estado do Rio Grande do Sul (FRANCO et al., 2001; FARIAS et al., 2007). No presente estudo o número de amostras por cultivares não foi uniforme, o que gerou um coeficiente de variação elevado, mesmo após homogeneização da amostra, não permitindo revelar diferenças de incidência para as cultivares. Respostas semelhantes foram obtidas por Soave et al. (1997) ao estudarem o comportamento de cultivares de arroz em relação aos fungos causadores de manchas em sementes, e por Farias et al., (2007), ao estudarem incidência de fungos associados a sementes de arroz em seis regiões produtoras do Rio Grande do Sul.

Mesmo sendo considerado o agente causal da principal doença do arroz irrigado (SOSBAI, 2018), *P. oryzae* não foi detectada na patologia de sementes, isso pode ser explicado pelo fato de que a maioria dos cultivares recomendados para o estado de Santa Catarina apresenta no mínimo resistência moderada ao patógeno (SOSBAI, 2018). O fungo também não foi detectado por Farias et al., (2007), ao analisar 162 amostras, sendo detectado por Franco et al. (2001) em baixa incidência com 0,04% em um estudo realizado com 350 amostras de sementes de arroz, ambos no estado do Rio Grande do Sul.

Este foi o primeiro levantamento de fungos associados a sementes de arroz irrigado no sistema de cultivo pré-germinado realizado em Santa Catarina, servindo como base para futuros trabalhos relacionados à importância de transmissão, germinação, vigor, resistência genética e tratamento de sementes.

2.6 CONCLUSÕES

Os fungos detectados com maior incidência em sementes de arroz irrigado na Região do Alto Vale do Itajaí são *M. albescens*, *A. padwickii*, *B. oryzae* e *Curvularia* sp.

Microdochium albescens é o principal fungo detectado em sementes de arroz irrigado produzidas na Região do Alto Vale do Itajaí com prevalência de 100%.

3 CAPÍTULO 2 - CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE ISOLADOS DE *Microdochium albescens* ORIUNDOS DE LAVOURA DE ARROZ IRRIGADO PRODUZIDAS NO ALTO VALE DO ITAJAÍ.

3.1 RESUMO

A caracterização molecular é de suma importância para a definição de uma determinada espécie. O objetivo deste estudo foi realizar a caracterização molecular de isolados de *Microdochium albescens* obtidos de sementes de arroz de lavouras do Alto Vale do Itajaí, SC. A obtenção do fungo de sementes de diferentes cultivares, lotes e locais de produção foi feita pelo teste de sanidade de sementes em meio de cultura batata-sacarose-ágar + antibiótico (BSA+A). Foram obtidos 16 isolados do fungo. O DNA genômico foi extraído de colônias crescendo em meio BSA utilizando o kit de purificação de DNA genômico Wizard®. Foram analisadas as regiões ITS, BTUB e RPB2. Pesquisas megablast foram realizadas no *National Center for Biotechnology Information* (NCBI). As sequências foram alinhadas usando as configurações padrão e ajustadas manualmente no softwer MEGA X. 10.2.6. Para as três regiões (BTU, ITS e RPB2) a história evolutiva foi inferida usando o método de acordo com a região. As árvores iniciais para a busca heurística foram obtidas automaticamente pela aplicação dos algoritmos Neighbour-Join e BioNJ. As análises evolutivas foram conduzidas no MEGA X. 10.2.6. O suporte nodal foi avaliado por análise de bootstrap de 1000 réplicas. Valores de bootstrap iguais ou superiores a 70% foram considerados significativos. De acordo com as análises moleculares os 16 isolados deste trabalho I27AVISC, I30AVISC, I39AVISC, I450AVISC, I850AVISC, I433AVISC, I437AVISC, I41AVISC, I8AVISC, I9AVISC, I806AVISC, I15AVISC, I420AVISC, I63AVISC, I56AVISC são da espécie *M. albescens*.

Palavras chaves: Semente de Arroz, *Microdochium albescens*, Isolados, Alto Vale do Itajaí.

3.2 ABSTRACT

Molecular characterization is of paramount importance for the definition of a particular species. The aim of this study was to carry out the molecular characterization of *Microdochium albescens* isolates obtained from rice seeds from crops in Alto Vale do Itajaí, SC. Obtaining the fungus from seeds of different cultivars, lots and places of production was performed using the seed health test in potato-sucrose-agar + antibiotic (PSA+A) culture medium. Were obtained 16 isolates of the fungus. Genomic DNA was extracted from colonies growing in PSA medium using the Wizard® Genomic DNA Purification Kit. The ITS, BTUB and RPB2 regions were analyzed. Megablast surveys were conducted at the National Center for Biotechnology Information (NCBI). The sequences were aligned using default settings and manually adjusted in the MEGA X softwer. 10.2.6. For the three regions (BTU, ITS and RPB2) the evolutionary history was inferred using the method according to region. The initial trees for the heuristic search were obtained automatically by applying the Neighbour-Join and BioNJ algorithms. Evolutionary analyzes were conducted in MEGA X. 10.2.6. Nodal support was evaluated by bootstrap analysis of 1000 replicas. Bootstrap values equal to or greater than 70% were considered significant. According to the molecular analysis, the 16 isolates of this work I27AVISC, I30AVISC, I39AVISC, I450AVISC, I850AVISC, I433AVISC, I437AVISC, I41AVISC, I8AVISC, I9AVISC, I806AVISC, I15AVISC, I420AVISC, I63AVISC, I56AVISC are of the species *M. albescens*.

Keywords: Molecular, Regions, Isolates, Primers, DNA, Fungi.

3.3 INTRODUÇÃO

O gênero *Microdochium* inclui cerca de 20 espécies, mas apenas algumas delas são bem conhecidas e têm sido estudadas (SEIFERT et al., 2011). Segundo Hernández-Restrepo, et al., (2016) houve seis novas combinações em *Microdochium* como *M. albescens*, *M. consociatum*, *M. fusariisporum*, *M. maydis*, *M. opuntiae* e *M. stevensonii*.

Monographella por muitos anos foi considerada a forma sexual de *Microdochium*. No entanto, com a implementação da nova nomenclatura foi mantido *Microdochium*, pois o mesmo tem mais espécie, é mais comumente encontrado, e o nome é mais frequentemente usado na literatura. Desta forma com a nova nomenclatura utiliza-se *Microdochium albescens* (Hernández-Restrepo, et al., 2016).

Estudos anteriores conectaram *Microdochium* com a família *Amphisphaeriaceae* (Parkinson et al. 1981, Samuels & Hallet 1983, VonArx 1984, Jaklitsch & Voglmayr 2012). No entanto em um estudo realizado por Hernández-Restrepo, et al., (2016) *Microdochium* formou um clado separado em Xylariales distinto de outras famílias. Com base nesses resultados de análises filogenéticas, *Microdochium* correspondem a uma nova família introduzida como *Microdochiaceae*.

Toda via faz-se necessário a identificação correta da espécie. Desta forma a caracterização morfológica é útil, porém apresenta limitações devido ao baixo número de caracteres passíveis de serem analisados, da alta instabilidade e da dependência da composição do meio utilizado, das condições de incubação e das variações intrínsecas ao patógeno (FUNGARO, 2000). Contudo a caracterização molecular é outra forma de classificação taxonômica que permite conhecer uma determinada espécie (MICHELMORE et al., 1991; LOPES et al., 2002).

Técnicas moleculares desenvolvidas a partir da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) como o sequenciamento de DNA, têm sido ferramentas úteis na identificação de vários organismos, dentre eles os fungos. Entre os marcadores moleculares utilizados para este propósito destaca-se o sequenciamento da região ITS (*Internal Transcribed Spacer*). Essa região é altamente conservada intraespecificamente, mas variável entre diferentes espécies, o que possibilita a distinção ao nível específico (Fungaro, 2000).

Apesar do uso frequente da região ITS-rDNA para identificação molecular de fungos, o uso individual dessa região nem sempre distingue suficientemente espécies fúngicas de níveis taxonômicos mais elevados, devido às limitações, como dificuldades no alinhamento de sequências (AVIS et al., 2006; KISS, 2012; LINDNER et al., 2013). Dessa forma, regiões gênicas mais conservadas, codificadoras de proteínas, também devem ser consideradas (GLASS et al., 2013).

O gene que codifica a segunda maior subunidade proteica da RNA polimerase II (RPB2) é considerado um marcador alternativo adequado para estudos filogenéticos de fungos que apresentam níveis taxonômicos mais elevados. É um gene bastante conservado, apresenta cópia única em fungos, fragmentos de tamanho grande, sequências de nucleotídeos facilmente alinháveis e taxa de evolução conveniente para estudos filogenéticos mais aprofundados (MATHENY, 2005; VĚTROVSKÝ et al., 2016).

O gene da β -tubulina está entre os mais proeminentes genes utilizados para o diagnóstico fúngico. Contudo, os bancos de dados para sequências desse gene não são tão abundantes quanto do DNA ribossomal (BRUNNER et al., 2007). Os genes para β -tubulina estão recebendo maior atenção na investigação de relações evolutivas, pois as tubulinas apresentam um alto grau de conservação em nível de aminoácidos e nucleotídeos, porém um alto grau de variabilidade nas regiões intrônicas (EINAX & VOIGT, 2003; LOPPNAU & BREUIL, 2003).

O objetivo deste estudo foi caracterizar molecularmente isolados de *M. albescens* oriundos de lavouras sementeiras de arroz irrigado produzidas no Alto Vale do Itajaí, SC.

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção dos Isolados

Os isolados usados neste estudo foram obtidos de sementes de arroz irrigado produzidas na Região do Alto Vale do Itajaí. Foram obtidos quatro isolados de cada variedade (SCSBRS Tio Taka, EPAGRI 109, SCS116 Satoru e SCS121 CL), sendo dois isolados para cada município (Agrônômica e Pouso Redondo) totalizando 16 isolados: I27AVISC, I30AVISC, I39AVISC, I450AVISC, I850AVISC, I433AVISC, I437AVISC, I41AVISC, I8AVISC, I9AVISC, I806AVISC, I15AVISC, I420AVISC, I63AVISC, I56AVISC e I53AVISC. Para a detecção do patógeno as sementes de cada cultivar, lote e local de produção foram desinfestadas com solução de hipoclorito de sódio (1%) durante dois minutos, com posterior enxágue com água destilada e estéril colocando em meio de cultura batata-sacarose-ágar + antibiótico (BSA+A) e incubadas a 25 °C com fotoperíodo de 12 horas por 10 dias.

Isolamento, amplificação e análises de DNA

O DNA genômico foi extraído de colônias de fungos crescendo em meio BSA utilizando o kit de purificação de DNA genômico Wizard® (Promega, Madison, EUA), de acordo com os protocolos do fabricante. A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) para amplificação de cada região foi realizada separadamente. Para a análise da região *Internal Transcribed Spacer* (ITS) foram utilizados os primers ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') e ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3') (WHITE et al., 1990) para amplificar a região contendo ITS1, $5 \pm 8S$ e sequências ITS2 entre o rDNA 18S e 28S. Parte da β -tubulina região do gene (BTUB) foi amplificada e sequenciada usando os primers Btub526F (5'-CGAGCGYATGAGYGYTACTT-3') e Btub1332R (5'-TCATGTTCTTGGGGTCGAA-3') (JEWELL & HSIANG 2013), e os primers RPB150F (5'-CTGGGGWGATCARAAGAAGG-3') (JEWELL & HSIANG 2013) e fRPB2-7Cr (5'-CCCATRGCTTGYYTTRCCCAT-3') (LIU et al. 1999) foram usados para a segunda maior RNA polimerase II gene da subunidade (RPB2).

As condições de amplificação para ITS seguiram Crous et al. (2013) e para BTUB e RPB2 Jewell & Hsiang (2013). Pesquisas megablast foram realizadas comparando com as sequências de nucleotídeos do banco de dados do *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) para identificar as sequências correspondentes mais próximas. As sequências foram alinhadas usando as configurações padrão e ajustadas manualmente em MEGA X. 10.2.6. (KUMAR, 2018). Para as três regiões (BTU, ITS e RPB2) a história evolutiva foi inferida usando o método de máxima verossimilhança e o modelo *Tamura 3-parameter* (TAMURA, 1992) (BTU e RPB2), e Kimura de 2 parâmetros (KIMURA, 1980) (ITS).

As árvores iniciais para a busca heurística foram obtidas automaticamente pela aplicação dos algoritmos Neighbour-Join e BioNJ a uma matriz de distâncias pareadas estimadas usando o modelo *Tamura 3-parameter* (BTU e RPB2) e abordagem de máxima verossimilhança composta (ITS). Em seguida foi selecionado a topologia com valor log de verossimilhança superior. Uma distribuição Gama discreta foi usada para modelar as diferenças de taxa evolutiva entre os locais (5

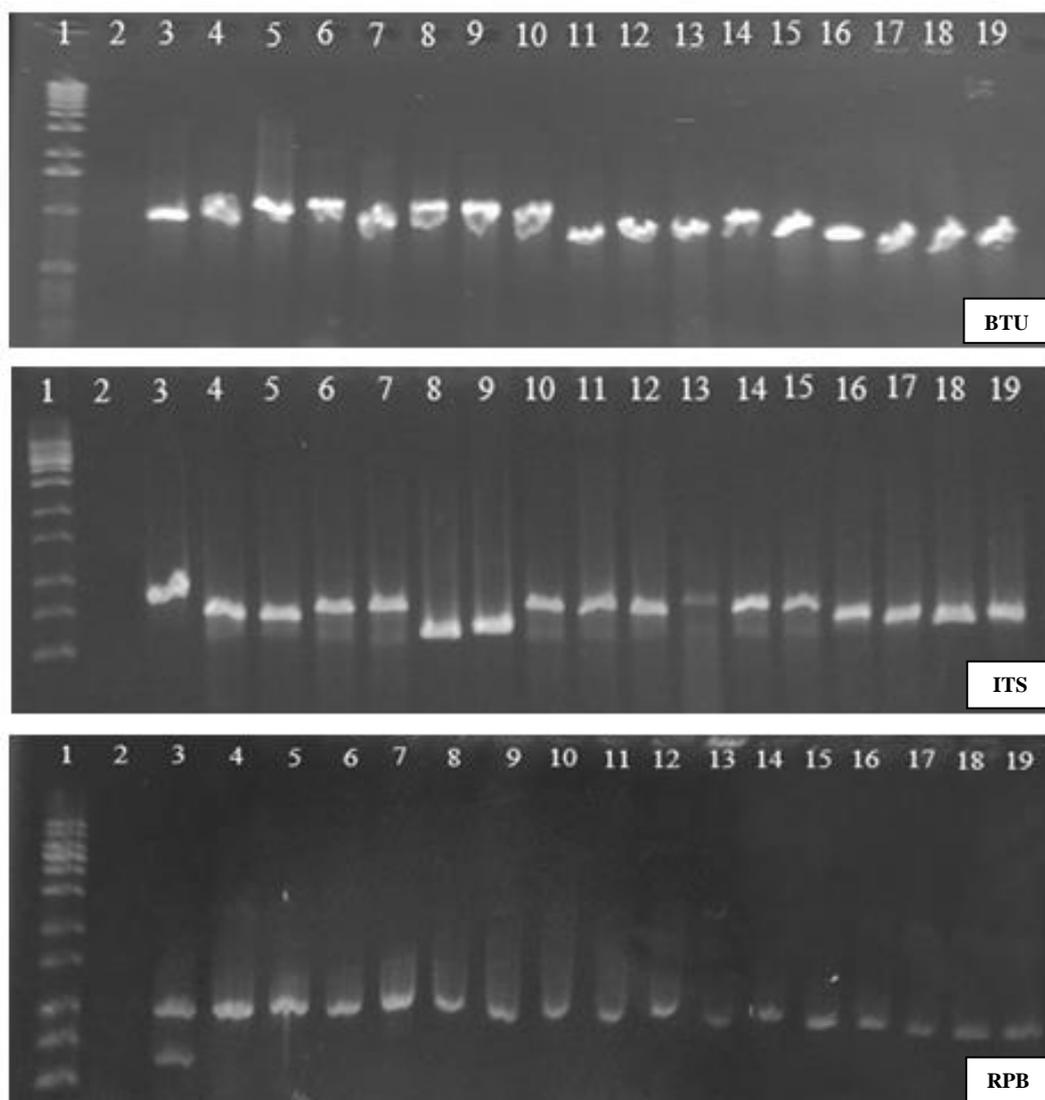
categorias (+ G, parâmetro = 0,0838)) (BTU e RPB2) e (+ G, parâmetro = 1,3152)) (ITS). Esta análise envolveu 25 (BTU) e 32 (ITS e RPB2) sequências de nucleotídeos. Havia um total de 827 (BTU), 633 (ITS) e 1005 (RPB2) posições no conjunto de dados final. As análises evolutivas foram conduzidas no MEGA X. 10.2.6. (KUMAR, 2018). O suporte nodal foi avaliado por análise de bootstrap de 1000 réplicas. Valores de bootstrap iguais ou superiores a 70% foram considerados significativos.

3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo, as sequências de nucleotídeos de três regiões genômicas foram usadas para explorar as diferenças entre espécies. As duas regiões de codificação de proteínas examinadas (β -tubulina e RPB2) formaram clados separados com forte suporte de bootstrap para a espécie *M. albescens* nos isolados deste estudo (Figura 3, 7). Para a região ITS também houve o agrupamento de um clado separado, no entanto com suporte de bootstrap inferior a β -tubulina e RPB2 para os mesmos isolados (Figura 5).

Houve a amplificação dos 16 isolados para as três regiões BTU, ITS e RPB2 (Figura 2). Observa-se que foi gerado um fragmento em média de 500 pb para a região BTU, 550 pb para ITS e 750 pb para RPB2. Em um estudo realizado por Hernández-Restrepo, et al., (2016) o isolado *M. albescens strain CBS 243.83* gerou um fragmento com 552 pb para região da BTU, o isolado *M. albescens strain CBS 290.79* gerou um fragmento com 567 pb para região ITS e o isolado *M. albescens strain CBS 291.79* gerou um fragmento com 810 pb para a região RPB2.

Figura 2 - Resultado da análise de eletroforese para detecção molecular dos isolados de *Microdochium albescens* referente as regiões BTUB, ITS e RPB2. Lages, SC, 2020.



Fonte: Produção do próprio autor (2019).

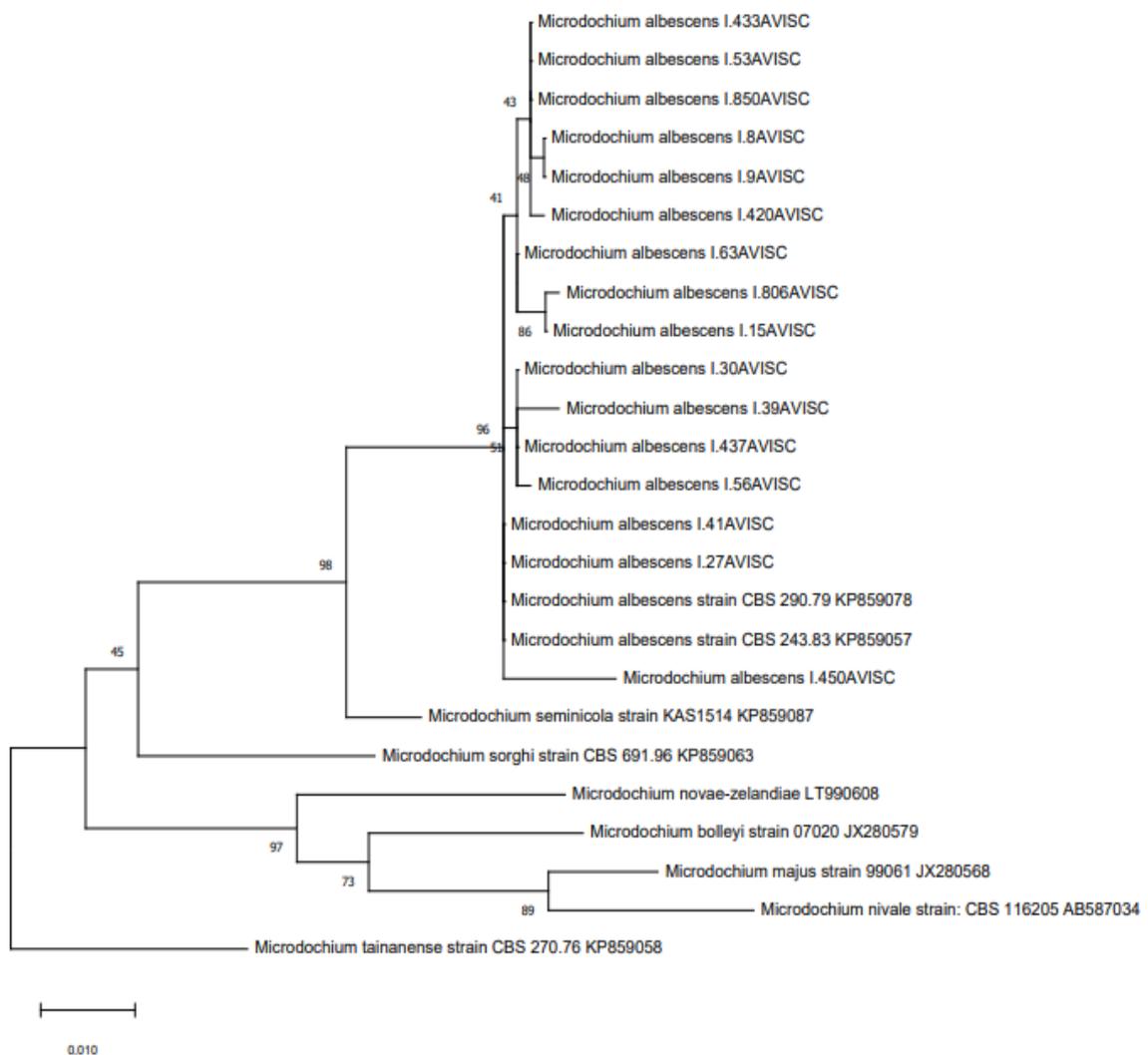
A faixa 1 corresponde ao marcador de peso molecular de 100 bp. A faixa 2 é o controle que não tem DNA molde. As faixas 4 a 19 são isolados de *M. albescens* I27AVISC, I30AVISC, I39AVISC, I450AVISC, I850AVISC, I433AVISC, I437AVISC, I41AVISC, I8AVISC, I9AVISC, I806AVISC, I15AVISC, I420AVISC, I63AVISC, I56AVISC e I53AVISC, respectivamente. A faixa 3 contém isolado de *M. albescens*.

Na figura 3 são mostrados os agrupamentos dos isolados referente a região BTU. Observa-se o agrupamento em um clado formado pelos isolados I27AVISC, I30AVISC, I39AVISC, I450AVISC, I850AVISC, I433AVISC, I437AVISC, I41AVISC,

I8AVISC, I9AVISC, I806AVISC, I15AVISC, I420AVISC, I63AVISC, I56AVISC e I53AVISC juntamente com o isolado *Microdochium albescens* Strain CB2290.79 KP859078 originário da Costa do Marfim com forte suporte de bootstrap (96%).

Observa-se que *M. seminicola*, *M. sorghi*, *M. novae-zelandiae*, *M. bolleyi*, *M. majus*, *M. nivale* e *M. tainanense* agruparam separadamente dos isolados deste trabalho.

Figura 3 - Árvore filogenética bayesiana inferida a partir dos dados de sequência de DNA da região BTUB de espécies de *Microdochium*. Os nomes das espécies são mostrados ao direito da árvore. A árvore foi enraizada com *Microdochium tainanense*.

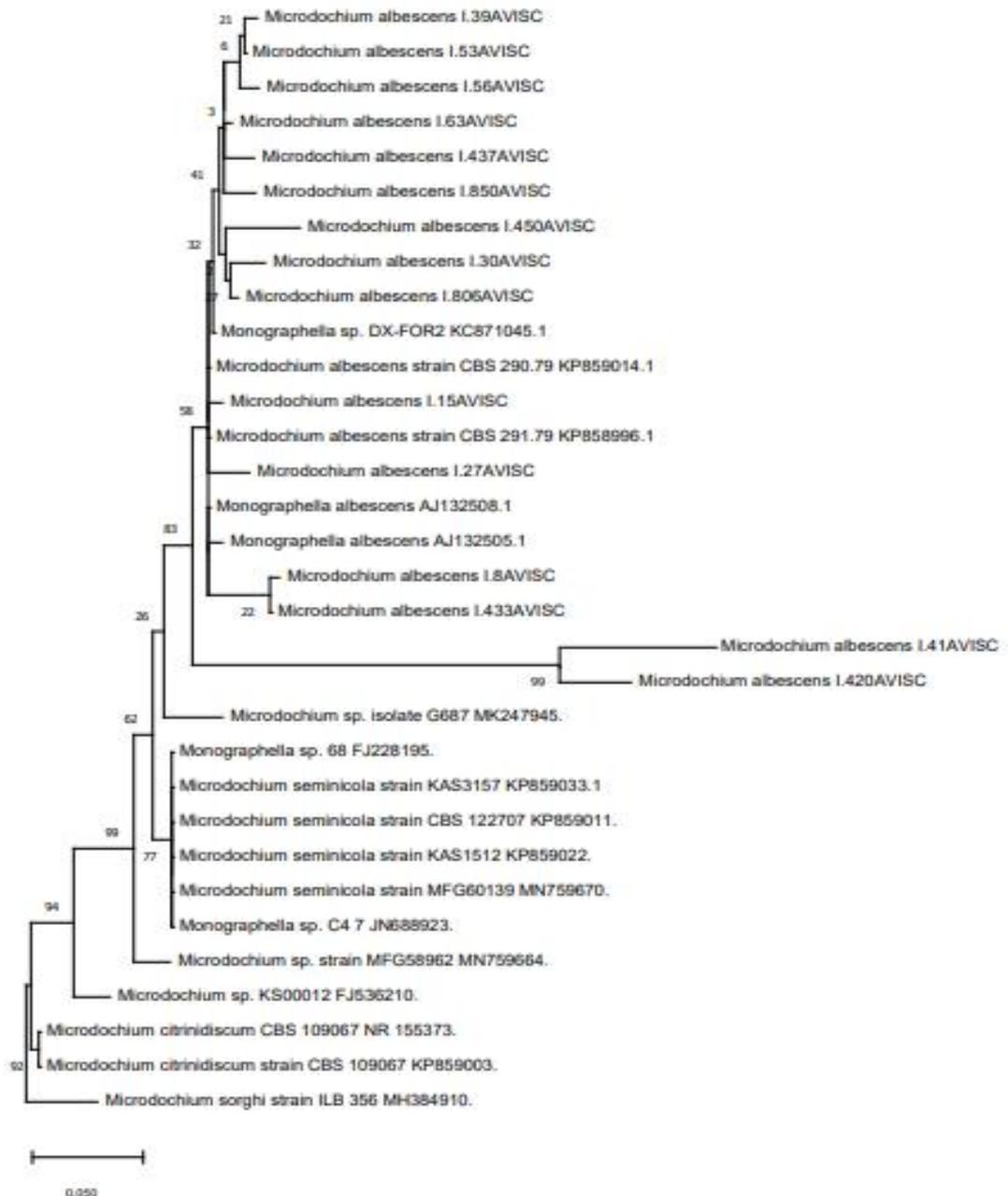


Fonte: Produção do próprio autor (2019).

Na figura 4 são mostrados os agrupamentos dos isolados referente a região ITS. Observa-se a o agrupamento em um clado formado pelos isolados I27AVISC, I30AVISC, I39AVISC, I450AVISC, I850AVISC, I433AVISC, I437AVISC, I41AVISC, I8AVISC, I806AVISC, I15AVISC, I420AVISC, I63AVISC, I56AVISC e I53AVISC juntamente com os isolados *M. albescens* Strain CBS 291.79 KP858996, *M. albescens* Strain CBS 290.79 KP859014, *Monographella albescens* AJ132508.1 e *Monographella albescens* AJ132505.1 originários da África Ocidental e *Monographella* sp. DX-FOR2 KC871045.1 originário da China com suporte de bootstrap de 83%. O isolado I9AVISC não está relacionado na árvore da região ITS, pois, o mesmo apresentou qualidade inferior aos demais no sequenciamento.

Na mesma figura observa-se que os isolados *Microdochium* sp. Isolate G687 ML247945, *Monographella* sp. 68 FJ228195, *M. seminicola* strain KAS3157 KP859033.1, *M. seminicola* strain CBS 122707 KP859011, *M. seminicola* strain KAS1512 KP859022, *M. seminicola* strain MFG60139 MN759670, *Monographella* sp. C4 7 JNG88923, *Microdochium* sp. Strain MFG58962 MN759664, *Microdochium* sp. KS00012 FJ536210, *M. citrinidiscum* CBS 109067 NR 155373, *M. citrinidiscum* strain CBS 109067 KP859003 e *M. sorghi* strain ILB 356 MH384910 agruparam separadamente dos isolados deste trabalho.

Figura 4 - Árvore filogenética bayesiana inferida a partir dos dados de sequência de DNA da região ITS de espécies de *Microdochium*. Os nomes das espécies são mostrados ao direito da árvore. A árvore foi enraizada com *Microdochium sorghi*.



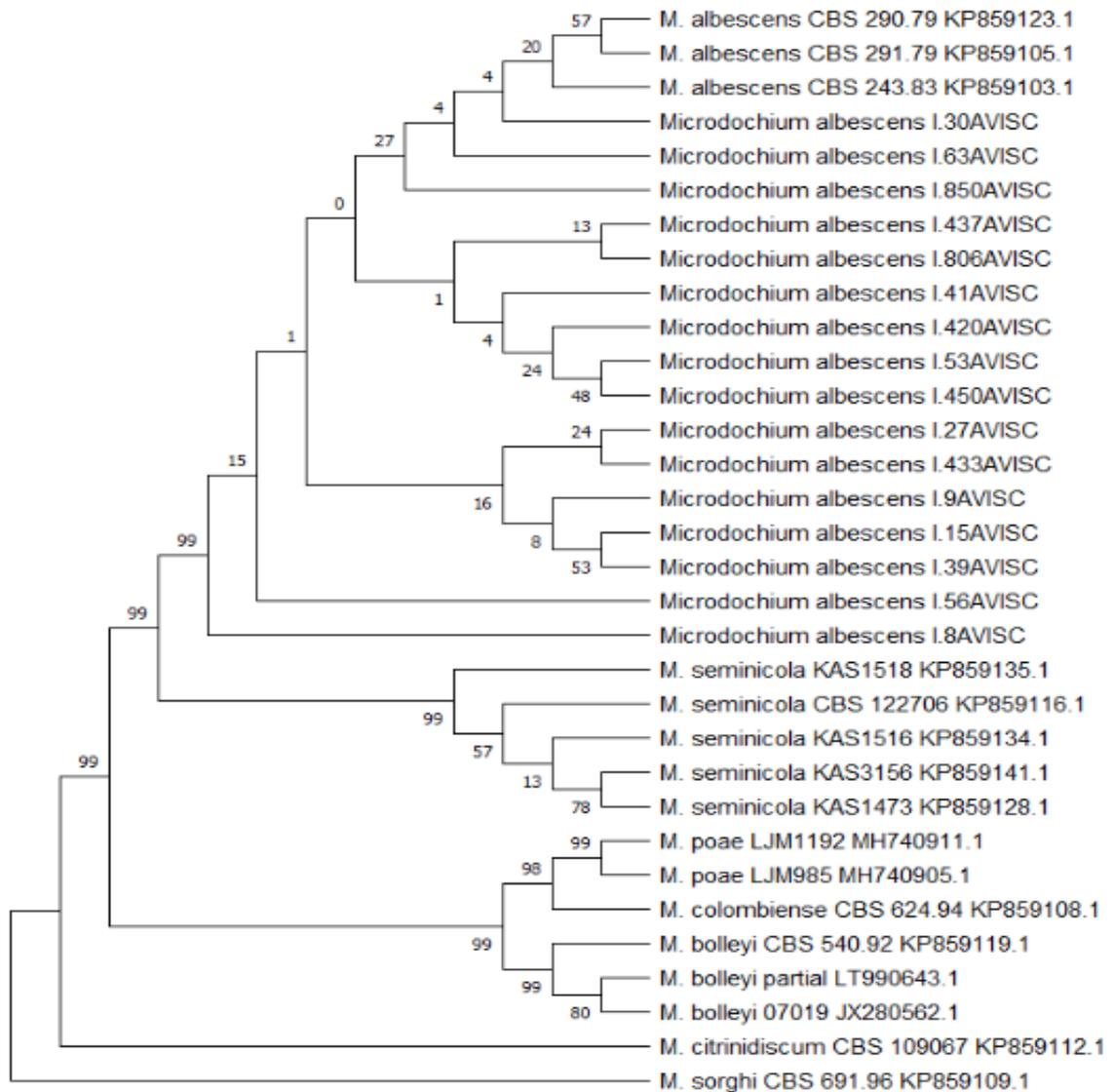
Fonte: Produção do próprio autor (2019).

Na figura 5 são mostrados os agrupamentos dos isolados referente a região RPB2. Observa-se o agrupamento em um clado formado pelos isolados I27AVISC, I30AVISC, I39AVISC, I450AVISC, I850AVISC, I433AVISC, I437AVISC, I41AVISC,

I8AVISC, I806AVISC, I15AVISC, I420AVISC, I63AVISC, I56AVISC e I53AVISC juntamente com os isolados *M. albescens* CBS 291.79 KP859105.1 e *M. albescens* CBS 290.79 KP859123.1 originários da África Ocidental e *M. albescens* CBS 243.83 KP859103.1 originário de um país desconhecido com suporte de bootstrap de 99%.

Na mesma figura observa-se que os isolados *M. seminicola* KAS1518 KP859135.1, *M. seminicola* CBS 122706 KP859116.1, *M. seminicola* KAS1516 KP859134.1, *M. seminicola* KAS3156 KP859141.1, *M. seminicola* KAS1473 KP859128.1, *M. poae* LJM1192 MH740911.1, *M. poae* LJM985 MH740905.1, *M. colombiense* CBS 624.94 KP859108.1, *M. bolleyi* partial LT990643.1, *M. bolleyi* 07019 JX280562.1, *M. citrinidiscum* CBS 109067 KP859112.1 e *M. sorghi* CBS 691 96 KP859109.1 agruparam separadamente dos isolados deste trabalho, ou seja, de *M. albescens*.

Figura 5 - Árvore filogenética bayesiana inferida a partir dos dados de sequência de DNA da região RPB2 de espécies de *Microdochium*. Os nomes das espécies são mostrados ao direito da árvore. A árvore foi enraizada com *Microdochium sorghi*.



Fonte: Produção do próprio autor (2019).

Todos os isolados presentes nas três árvores são do mesmo gênero, contudo são de espécies diferentes formando agrupamentos separados.

Os resultados deste estudo corroboram com o estudo feito por Hernández-Restrepo, et al., (2016) com diferentes isolados de *Microdochium*, onde a espécie de *M. albescens* formou um clado separado das demais espécies.

3.6 CONCLUSÕES

Os isolados de *Microdochium* I27AVISC, I30AVISC, I39AVISC, I450AVISC, I850AVISC, I433AVISC, I437AVISC, I41AVISC, I8AVISC, I9AVISC, I806AVISC, I15AVISC, I420AVISC, I63AVISC, I56AVISC oriundos de sementes de arroz irrigado produzidas na Região do Alto Vale do Itajaí, Santa Catarina, são da espécie *M. albescens*.

4 CAPÍTULO 3 - VIABILIDADE E LOCALIZAÇÃO DE *Microdochium albescens* EM SEMENTES DE ARROZ IRRIGADO PRODUZIDAS NO SISTEMA DE CULTIVO PRÉ-GERMINADO

4.1 RESUMO

O objetivo deste trabalho foi quantificar a viabilidade de *Microdochium albescens* em sementes de arroz irrigado armazenadas durante o período da entressafra no estado de Santa Catarina e quantificar a sua incidência nas estruturas das sementes. Sementes de arroz irrigado das cultivares SCS122 Miura e SCS121 CL, armazenadas durante o período da entressafra 2018/19, em sacos de polipropileno em unidade de beneficiamento de sementes, foram mensalmente coletadas e enviadas para laboratório para teste de sanidade. Para cada cultivar foram analisados oito lotes de sementes, 400 sementes por lote, desinfestadas em hipoclorito de sódio (1%), semeadas em meio de cultura de batata-sacarose-ágar + antibiótico (BSA+A) e incubadas por sete dias a 25°C e 12 h de fotoperíodo. Os dados de incidência do fungo em função do tempo de armazenamento foram submetidos à análise de regressão. A determinação da localização do fungo nas sementes foi quantificada em duas amostras de 400 sementes das mesmas cultivares, separando-se lema, pálea, endosperma e embrião, com posterior desinfestação e plaqueamento em meio de cultura. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste de comparação de médias. O fungo *M. albescens* apresentou durante 10 meses de armazenamento das sementes viabilidade de 77,8%, considerando a média das duas cultivares. Não houve diferença estatística entre cultivares considerando a localização do fungo na semente, entretanto, houve diferença entre estruturas da semente, sendo na média 48% de detecção na lema, 43,7% na pálea, 24,7% no endosperma 24,7% e 20,7% no embrião. O fungo *M. albescens* mantém a viabilidade infectando sementes de arroz irrigado durante o período de entressafra e o micélio é detectado com maior incidência nos tecidos externos da cariopse.

Palavras-chave: Viabilidade, incidência, localização, sementes, *M. albescens*.

4.2 ABSTRACT

The aim of this work was to quantify the viability of *M. albescens* in irrigated rice seeds stored during the off-season in the state of Santa Catarina and to quantify its incidence in the seed structures. Irrigated rice seeds from cultivars SCS122 Miura and SCS121 CL, stored during the off-season 2018/19, in polypropylene bags in a Seed Processing Unit, were collected monthly and sent to the laboratory for health testing. For each cultivar, eight seed lots, 400 seeds per lot, were disinfected in sodium hypochlorite (1%), sown in potato-sucrose-agar + antibiotic culture medium (BSA + A) and incubated for seven days at 25°C and 12 h of photoperiod. Data on the incidence of the fungus as a function of storage time were subjected to regression analysis. The determination of the location of the fungus in the seeds was quantified in two samples of 400 seeds of the same cultivars, separating the lemma, pale, endosperm and embryo, with subsequent disinfestation and plating in culture medium. The data obtained were subjected to analysis of variance and means comparison test. The fungus *M. albescens* showed 77.8% viability for 10 months of seed storage, considering the average of the two cultivars. There was no statistical difference between cultivars considering the location of the fungus in the seed, however, there was a difference between seed structures, with an average of 48% detection in the lemma, 43.7% in the palea, 24.7% in the endosperm 24.7% and 20.7% in the embryo. The fungus *M. albescens* maintains viability infecting irrigated rice seeds during the off-season period and the mycelium is detected with greater incidence in the external tissues of the caryopsis.

Keywords: Viability, incidence, location, seeds, *M. albescens*.

4.3 INTRODUÇÃO

A ocorrência de doenças restringe a produção de grãos e sementes de arroz. Em Santa Catarina, brusone (*Pyricularia oryzae* Cav.) ainda é considerada a principal doença, no entanto, há relatos crescentes da intensidade de escaudadura

das folhas (*Microdochium albescens* Hern. Restr. & Crous) (MIURA, 2002; SOSBAI, 2018). A planta de arroz em alguma fase de desenvolvimento está sujeita à infecção de patógenos que reduzem tanto a qualidade como a quantidade de grãos.

Dentre alguns danos diretos, ocasionados pelas doenças no arroz, tem-se a redução do estande de plantas, redução geral na eficiência produtiva das plantas, grãos manchados e menor número e/ou tamanho de grão (MIURA, 2002).

Microdochium albescens infecta folhas e bainhas, porém a infecção de sementes também é importante porque reduz a germinação de sementes e vigor das plântulas (SINGH e GUPTA, 1985). Sob condições ambientais *M. albescens* pode sobreviver de três a 18 meses em sementes de arroz armazenadas (MIA et al., 1987; SINGH e GUPTA, 1986), entretanto pode sobreviver até 11 anos a temperatura de 5 °C (MIA et al. al., 1985). Todas as partes da semente de arroz são locais de infecção para *M. albescens* (KIM et al., 1984; Mia et al., 1986), porém a localização precisa do patógeno na semente pode ajudar a determinar a eficácia dos tratamentos de sementes (FAIAD et al., 1993).

O objetivo deste trabalho foi quantificar a viabilidade de *M. albescens* em sementes de arroz irrigado armazenadas durante o período da entressafra no estado de Santa Catarina e quantificar a sua incidência nas estruturas das sementes.

4.4 MATERIAL E MÉTODOS

Experimento I - Incidência e viabilidade de *M. albescens* em sementes de arroz irrigado.

Embora as sementes de arroz irrigado fiquem armazenadas por um período médio de sete meses na entressafra, esse estudo foi conduzido por nove meses desde março a novembro de 2018. Foram utilizados oito lotes das sementes de arroz irrigado das cultivares SCS122 Miura (7/8/12/14) e SCS121 CL (404/407/408/410) infectadas naturalmente pelo fungo *M. albescens* provenientes da Cooperativa CRAVIL, unidade Rio do Sul/SC.

As amostras de sementes não apresentavam tratamento químico e estavam armazenadas em sacos de polipropileno com capacidade de 25 kg, suportada por paletes, no interior de armazéns de alvenaria com controle parcial de temperatura, umidade do ar e ventilação natural. A coleta e homogeneização das amostras seguiu

as exigências indicadas pelas Regras de Análises de Sementes (RAS) (BRASIL, 2009). Amostras de quatrocentas sementes das diferentes cultivares foram desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio 1% + água esterilizada, lavadas em água estéril e secas sobre papel filtro. As sementes foram semeadas em placas de acrílico contendo meio de cultura batata-sacarose-ágar + antibiótico (BSA+A) com quatro repetições de 100 sementes por amostra totalizando 400 sementes por tratamento. As sementes foram mantidas em câmara de crescimento na temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas por sete dias.

A identificação das sementes infectadas por *M. albescens* foi realizada com lupa estereoscópica (aumento de 40x) e quando necessário pela montagem de lâminas para visualização das estruturas reprodutivas do patógeno em microscópio ótico. A viabilidade de *M. albescens* foi avaliada a cada 30 dias durante os nove meses de armazenamento.

Os dados da incidência de *M. albescens* em sementes foram submetidos à análise de variância (Tukey, $p \leq 0,05$). Os resultados da relação entre incidência de *M. albescens* e tempo de armazenamento foram submetidos à análise de regressão. A viabilidade do fungo foi calculada utilizando-se regra de três simples, segundo a fórmula:

$$V (\%) = [i \times 100 / I] - 100$$

Considerando que V é a viabilidade do fungo ao final do período de armazenamento, i é a incidência inicial e I é a incidência final do fungo em cada cultivar e lote.

Experimento II - Localização do fungo *M. albescens* na semente

Foram utilizados dois lotes das variedades SCS121 CL e SCS122, onde foram retiradas 400 sementes por lotes e separados a lema, pálea, endosperma e embrião (Figura 2). Posteriormente as estruturas foram desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio 1% + água esterilizada, lavadas em água estéril e secas sobre papel filtro e semeadas em placas de acrílico contendo meio de cultura batata-

sacarose-ágar + antibiótico (BSA+A) com quatro repetições de 100 estruturas por cultivar em um delineamento inteiramente casualizado.

Figura 6 - Detalhe da Lema, Pálea, Endosperma e Embrião separados para avaliação da incidência de *Microdochium albescens*, Lages 2018.



Fonte: Produção do próprio autor, 2018.

As sementes foram mantidas em câmara de crescimento na temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas por sete dias. A determinação das sementes infectadas por *M. albescens* foi realizada com lupa estereoscópica (aumento de 40x) e quando necessário pela montagem de lâminas para visualização das estruturas reprodutivas do patógeno em microscópio óptico. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste de comparação de médias (Tukey, $p \leq 0,05$).

4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Experimento I - Incidência e viabilidade de *M. albescens* em sementes de arroz irrigado.

O fungo *M. albescens* foi detectado em ambas as cultivares de arroz irrigado em todas as amostras durante o período de entressafra, com significativa redução na detecção à medida que aumentou o período de armazenamento. O fungo manteve a viabilidade nas sementes de arroz irrigado ao final do armazenamento.

Nas sementes da cultivar SCS121 CL as reduções da incidência média do início ao final do armazenamento foram de 67,5% para 53,5% no lote 404, de 66,0% para 48,0% no lote 407, de 65,5% para 53,5% no lote 408 e 72,0% para 47,0% no lote 410. Nas sementes das cultivar SCS122 Miura verificaram-se reduções de incidência média de 63,0% para 52,0% no lote 7, de 61,5% para 52,0% no lote 8, de 68,5% para 48,0% no lote 12 e 71,0% para 61,0% no lote 14 (Figura 1).

Considerando 100% de viabilidade de *M. albescens* na primeira avaliação, ao final do armazenamento observou-se viabilidade de 77,8% na média de todos os lotes e cultivares (Tabela 1). De acordo com Telles Neto et al., (2007) ao armazenar sementes de trigo durante 12 meses a incidência do fungo *Fusarium graminearum* pode chegar a zero. Reis et al. (1995) após um período de armazenamento de 22 meses não mais detectaram o fungo *Pyricularia grisea* Cooke (Sacc.) em duas cultivares de trigo. Casa et al., (2012) também detectaram a presença de *A. alternata* nas sementes de trigo durante seis meses de armazenamento obtendo uma redução média de 49,5% de viabilidade no final do período de armazenamento. No presente estudo, *M. albescens* teve uma redução na viabilidade de apenas 22,2% durante os nove meses de armazenamento, demonstrando sua grande importância na semente.

Tabela 3 - Viabilidade de *Microdochium albescens* em sementes de arroz irrigado durante o armazenamento nas Unidades de Processamento de Sementes da Cooperativa CRAVIL de Rio do Sul - SC.

Cultivar	Lote	Incidência	Incidência	Viabilidade
		Inicial	Final	Final
	%.....		
SCS121 CL	404	67.5	53.5	79.3
SCS121 CL	407	66.0	48.0	72.7
SCS121 CL	408	65.5	53.5	81.7
SCS121 CL	410	72.0	47.0	65.3
Média		67.8	50.5	74.7
SCS122 Miura	7	63.0	52.0	82.5
SCS122 Miura	8	61.5	52.0	84.5
SCS122 Miura	12	68.5	48.0	70.1
SCS122 Miura	14	71.0	61.0	85.9
Média		66.0	53.3	80.8
Média geral		66.9	51.9	77.8

Cultivar SCS121 CL: Lote 404 $y = -1.80x + 70.20$ $R^2 = 0.92$ / **Lote 407** $y = -2.80x + 67.93$ $R^2 = 0.97$ / **Lote 408** $y = -1.61x + 66.54$ $R^2 = 0.90$ / **Lote 410** $y = -3.30x + 76.76$ $R^2 = 0.98$. **Cultivar SCS122 Miura: Lote 7** $y = 65.05^* - 0.04 x^*$ $R^2 = 0.88$ / **Lote 8** $y = 60.19^* - 0.04 x^*$ $R^2 = 0.87$ / **Lote 12** $y = 73.57^* - 0.08 x^*$ $R^2 = 0.97$ / **Lote 14** $y = 72.57^* - 0.03 x^*$ $R^2 = 0.82$.

Um estudo, realizado por Sanchez et al., 1979 observou-se a presença de *M. albescens* em sementes de arroz durante dois anos de armazenamento. Em outro estudo realizado por Mia et al., (1985) indicou sobrevivência de *M. albescens* nas sementes em até 11 anos quando armazenadas a 5 °C. Segundo Manandhar (1999) ocorre um declínio na sobrevivência de *M. albescens* ao longo do armazenamento.

Ao analisar as sementes da cultivar SCS121 CL, *M. albescens* apresentou 74,7% de viabilidade no final do armazenamento enquanto que na cultivar SCS122 Miura o valor foi de 80,8% (Tabela 1). Os resultados mostram que *M. albescens* sobrevive infectando sementes de arroz irrigado armazenadas em temperatura ambiente desde o beneficiamento até o momento da semeadura na região do sul do país. A sobrevivência de *M. albescens* em sementes de arroz naturalmente infectadas diminui em função das condições de armazenamento (MIA et al., 1987; SINGH e GUPTA, 1986).

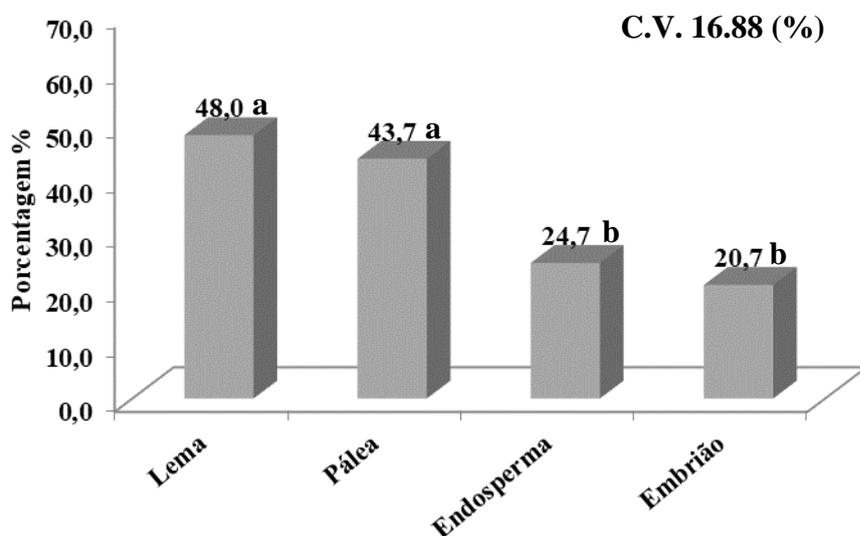
Normalmente análises de sanidade de sementes são efetuadas próximas da data de semeadura, o que corresponde no sul do Brasil um tempo aproximado de seis a oito meses de armazenamento. Considerando este fato espera-se uma redução na incidência de *M. albescens*, entretanto o fungo ainda se mantém viável. Uma das maneiras para eliminação desse fungo seria através do tratamento de sementes (TS).

Experimento II - Localização do fungo *M. albescens* na semente

Os quatro componentes de sementes das duas cultivares foram infectados com o fungo *M. albescens* (Figura 7). Não houve diferença estatística entre as cultivares, entretanto houve diferença entre os componentes. A localização do fungo é considerada a mais importante no processo de transmissão (MAUDE, 1996; AGARWAL e SINCLAIR, 1997). Em estudo realizado por Singh e Sen Gupta (1981) o fungo *M. albescens* foi encontrado apenas em sementes não desinfestadas, indicando apenas sua localização externa. Contudo o fungo encontra-se também internamente à semente (MIA et al. 1986; MAUDE, 1996).

Quando separou a Lema da pálea (componentes que formam a gluma) não teve diferença entre si, entretanto as mesmas diferenciaram estatisticamente do endosperma e embrião. Média de infecção na lema foi de 48%, pálea 43,7%, endosperma 24,7% e embrião 20,7%. Resultados encontrados por Manandhar (1999) relataram média de infecção por *M. albescens* de 5,8% no endosperma, 4,3% na lema, 2,7% nas glumas basais, 1,8% na pálea e 0,9% no embrião. Outro trabalho realizado por Mia et al., (1986) relatou maior frequência de infecção por *M. albescens* nas glumas.

Figura 7 - Incidência média de *Microdochium albescens* em lema, pálea, endosperma e embrião de semente de arroz considerando os cultivares SCS121 CL e SCS122 Miura.



Fonte: Produção do próprio autor (2019).

O conhecimento da localização do patógeno na semente de arroz é de suma importância, pois auxiliará em trabalhos futuros relacionados à germinação, vigor, transmissão e estratégias de controle, seja ele químico ou biológico.

Este é o primeiro trabalho analisando a viabilidade e a localização de *M. albescens* em sementes de arroz irrigado no Brasil, servindo como base para futuros trabalhos relacionados à importância de transmissão, germinação, vigor, resistência genética e tratamento de sementes.

4.6 CONCLUSÕES

As sementes de arroz irrigado mantêm a sobrevivência e a viabilidade de *M. albescens* no período de entressafra da cultura no estado de Santa Catarina.

O micélio de *M. albescens* é detectado com maior incidência nos tecidos externos da cariopse do arroz.

5 CAPÍTULO 4 - TRANSMISSÃO DE *Microdochium albescens* DE SEMENTES PARA PLÂNTULAS DE ARROZ IRRIGADO NO SISTEMA DE CULTIVO PRÉ-GERMINADO.

5.1 RESUMO

O fungo *Microdochium albescens* é um dos principais patógenos associados à semente de arroz irrigado no estado de Santa Catarina. O objetivo deste trabalho foi quantificar a transmissão de *M. albescens* de sementes naturalmente infectadas para coroa, coleóptilo e plúmula da plântula em cultivares de arroz irrigado no sistema pré-germinado. Utilizaram-se sementes das cultivares SCSBRS Tio Taka, Epagri 109, SCS116 Satoru, SCS118 Marquês, SCS121 CL e SCS122 Miura, produzidas no Alto Vale do Itajaí referentes a safra 2016/17. A semeadura foi realizada em substrato isento do fungo utilizando quatro lotes de sementes não tratadas para cada cultivar. Aos 14 dias após a semeadura as plântulas foram cuidadosamente arrancadas destacando-se coroa, coleóptilo e primeira folha, ambas desinfestadas e plaqueados em meio de cultura batata-sacarose-ágar + Antibiótico (BSA+A). O fungo *M. albescens* foi transmitido assintomaticamente numa taxa de 39,3%, 25,8% e 5,4%, respectivamente para coroa, coleóptilo e primeira folha, considerando a média das cultivares. Comprova-se que *M. albescens* é transmitido da semente infectada para plântulas de arroz irrigado.

Palavras-chave: *Oryza sativa*, semente infectada, taxa de transmissão.

5.2 ABSTRACT

The fungus *M. albescens* is one of the main pathogens associated with irrigated rice seed in the state of Santa Catarina. The aim of this work was to quantify the transmission of *M. albescens* from naturally infected seeds to crown, coleoptile and seedling seedling in irrigated rice cultivars in the pre-germinated system. Seeds of cultivars SCSBRS Tio Taka, Epagri 109, SCS116 Satoru, SCS118 Marquês,

SCS121 CL and SCS122 Miura, produced in Alto Vale do Itajaí for the 2016/17 season were used. Sowing was carried out on a substrate free of the fungus using four lots of untreated seeds for each cultivar. At 14 days after sowing, the seedlings were carefully plucked, highlighting the crown, coleoptile and first leaf, both disinfected and plated in potato-sucrose-agar + antibiotic (BSA+A) culture medium. The fungus *M. albescens* was transmitted asymptotically at a rate of 39.3%, 25.8% and 5.4%, respectively for crown, coleoptile and first leaf, considering the average of the cultivars. It is proven that *M. albescens* is transmitted from the infected seed to irrigated rice seedlings.

Keywords: *Oryza sativa*, infected seed, transmission rate.

5.3 INTRODUÇÃO

No Brasil o cultivo do arroz predomina nos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul, ambos com produção estimada em 1,2 e 8,2 milhões de toneladas, respectivamente (CONAB, 2021).

As condições climáticas que favorecem o cultivo do arroz no sul do Brasil são também propícias à ocorrência de doenças (SOSBAI, 2018). A associação de agentes patogênicos com as sementes é um mecanismo eficiente de disseminação do inóculo por longas distâncias, podendo ser introduzidos em novas áreas de cultivo constituindo-se em fonte de inóculo primário (MALAVOLTA et al., 2002).

A escaldadura, causada pelo fungo *M. albescens* tem sido relatada em todas as regiões produtoras de arroz no mundo (FARR et al., 2008). As sementes são consideradas fonte de inóculo primário (OU, 1985; WEBSTER & GUNNELL, 1992), e a transmissão do fungo em cultivo de sequeiro ocorre através de sementes infectadas provocando descoloração nas plântulas (FILIPPE et al., 2005; GUTIÉRREZ, 2008). A escaldadura reduz o número, peso e qualidade fisiológica de sementes (MOURA et al., 2014), causando até 30% de danos no rendimento (THOMAS, 1984).

Testes de sanidade de sementes de arroz irrigado provenientes de lavouras catarinenses, realizados no Laboratório de Fitopatologia da Universidade do Estado

de Santa Catarina nas safras 2015/16, 2016/17 e 2017/18 revelaram prevalência de 100% de *M. albescens* e incidência média superior a 50% (SCHEIDT et al., 2020a).

O aumento da doença é constante nas lavouras, no entanto, há poucas informações sobre a epidemiologia desta doença nas condições de sul do Brasil e especificamente sobre a importância da semente infectada na introdução do patógeno nas lavouras de arroz irrigado no sistema pré-germinado.

O presente estudo teve por objetivo quantificar a transmissão de *M. albescens* de sementes naturalmente infectadas para coroa, coleóptilo e primeira folha da plântula em cultivares de arroz irrigado no sistema pré-germinado.

5.4 MATERIAL E MÉTODOS

Utilizaram-se sementes das cultivares SCSBRS Tio Taka, Epagri 109, SCS116 Satoru, SCS118 Marquês, SCS121 CL e SCS122 Miura, produzidas no Alto Vale do Itajaí na safra 2016/17 e fornecidas pela cooperativa Cravil. Vários lotes de sementes foram submetidos ao teste de sanidade para detecção do fungo, identificando-se quatro lotes por cultivar com infecção natural de *M. albescens*, sendo dois lotes acima e dois lotes abaixo de 50% de incidência, totalizando 24 lotes de sementes não tratadas.

As semeaduras foram realizadas em casa de vegetação com substrato isento do fungo na proporção 3:1, constituído pela mistura de solo e areia grossa. A mistura foi acondicionada em 48 bandejas de plástico (54,5 cm de comprimento, 37 cm de largura e 9 cm de altura), sendo alagada 30 dias antes da semeadura. Antes da semeadura, as sementes foram previamente imersas em água durante 36 horas, com posterior retirada e manutenção das mesmas sobre papel germitest no escuro por mais 36 horas visando induzir o processo de germinação. Decorrido esse tempo, as sementes se apresentavam no “ponto de agulha”, que é o estágio fenológico ideal para semeadura no sistema pré-germinado (SOSBAI, 2018). As sementes pré-germinadas de todos os lotes foram semeadas em uma lâmina de água de um centímetro, contendo 50 sementes por bandeja. A temperatura da casa de vegetação durante a condução do experimento foi de $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Aos 14 dias após a semeadura foram coletadas quatro repetições de 25 plântulas por lote de semente.

As plântulas foram removidas e lavadas em água corrente para retirada do substrato sendo encaminhadas ao Laboratório de Fitopatologia para posterior análise. Com o auxílio de um bisturi esterilizado foram removidos de cada plântula, a coroa, o coleóptilo e a plúmula (Figura 5), ambos desinfestados em solução de hipoclorito de sódio (1%) por dois minutos, seguidos de enxágue em água destilada estéril e de secagem sobre papel germitest dentro da câmara de fluxo laminar. Com uma pinça flâmbada as estruturas vegetais foram acondicionadas em placas de Petri (plásticas), com 8,5 cm de diâmetro, contendo meio de cultura BSA, acrescido de antibiótico (sulfato de estreptomicina, 3 g em 100 mL de água destilada e esteril, retirando 12 mL para cada litro de meio de BSA). As placas foram incubadas durante sete dias em câmara de crescimento a temperatura de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas.

Considerou-se infectado a estrutura vegetal sob o qual foi possível identificar a colônia e/ou estruturas do fungo *M. albescens* (GROTH, 1992), observadas sob lupa binocular com aumento de 50 vezes e/ou lâmina em microscópio ótico.

Figura 8 - Detalhe da coroa, coleóptilo e plúmula separados para avaliação da transmissão de *Microdochium albescens*, Lages 2018.



Fonte: Produção do próprio autor (2017).

Os dados obtidos para cada cultivar e lote foram expressos em percentagem de transmissão do fungo da semente para cada estrutura em função de sua

incidência na semente e no órgão. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições de 25 estruturas vegetais para cada cultivar e lote de semente. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias da taxa de transmissão de cada estrutura vegetal foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$) com o auxílio do Software R (R CORE TEAM, 2017), versão 3.4.1.

5.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A incidência média do fungo *M. albescens* nos 24 lotes de sementes das seis cultivares de arroz irrigado foi de 48% (Tabela 1), variando de 32,7% na cultivar SCS122 Miura a 57,5% na cultivar SCS116 Satoru. Independente da cultivar avaliada, a taxa de transmissão foi maior para a coroa, decrescendo respectivamente para coleóptilo e primeira folha. Na média dos lotes e cultivares houve transmissão de 39,3% (0,393:1) para coroa, 25,8% (0,258:1) para o coleóptilo e 5,4% (0,054:1) para a primeira folha. Considerando cada estrutura vegetal a taxa de transmissão variou de 30% a 50% na coroa, de 18,7% a 50% no coleóptilo e de 0% a 19,2% na plúmula, conforme a cultivar e o lote de semente (Tabela 1).

Tabela 4 - Incidência de *Microdochium albescens* em sementes e taxa de transmissão do fungo da semente para plântulas de cultivares de arroz irrigado. Lages, SC, 2018.

Lote	Cultivar	Incidência na semente (%)	Taxa de Transmissão (%) ¹		
			Coroa	Coleótilo	Plúmula
1	SCSBRS Tio	80			
	Taka		50,0	21,9	0,0
2	SCSBRS Tio	28			
	Taka		31,2	17,9	0,0
3	SCSBRS Tio	33			
	Taka		34,1	18,9	0,0
4	SCSBRS Tio	88			
	Taka		36,9	19,9	0,0
Média		57,3	38,1 a	19,7 b	0,0 c
5	EPAGRI 109	19	39,5	26,3	13,2
6	EPAGRI 109	73	47,9	29,1	5,1
7	EPAGRI 109	73	34,2	22,3	5,1
8	EPAGRI 109	13	48,1	38,5	19,2
Média		44,5	42,4 a	29,1 b	10,7 c
9	SCS116	82			
	Satoru		41,2	24,4	3,0
10	SCS116	36			
	Satoru		41,7	24,3	6,9
11	SCS116	25			
	Satoru		30,0	30,0	5,0
12	SCS116	87			
	Satoru		37,4	18,7	5,7
Média		57,5	37,6 a	24,4 b	5,2 c
13	SCS118	86			
	Marquês		46,5	29,1	0,0
14	SCS118	26			
	Marquês		43,3	28,8	0,0
15	SCS118	28			
	Marquês		35,7	26,8	0,0
16	SCS118	85			
	Marquês		35,3	20,6	0,0
Média		56,3	40,2 a	26,3 b	0,0 c
17	SCS121 CL	18	34,7	27,8	13,9
18	SCS121 CL	76	39,5	21,4	4,9
19	SCS121 CL	64	41,0	23,4	5,9
20	SCS121 CL	10	50,0	50,0	12,5
Média		42,0	41,3 a	30,6 b	9,3 c
21	SCS122 Miura	43	29,1	20,4	5,8
22	SCS122 Miura	23	32,6	21,7	5,4

23	SCS122 Miura	23	38,0	27,2	10,9
24	SCS122 Miura	42	44,6	29,7	5,9
Média		32,7	36,1 a	25,0 b	7,0 c
Média Geral		48,4	39,3 a	25,8 b	5,4 c
C.V (%)		42,0			

¹Avaliado em plântulas com aos 14 dias após a semeadura; Taxa calculada com base na incidência do fungo na semente e incidência de detecção do fungo na estrutura vegetal.

* Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

A menor taxa de transmissão para coroa (36,1%) foi observada na cultivar SCS122 Miura, enquanto que a maior taxa nesta mesma estrutura foi de 42,4% na cultivar Epagri 109. Para o coleóptilo a menor taxa ocorreu para SCSBRS Tio Taka com 19,7% enquanto SCS121 CL obteve a maior taxa com 30,6%. As cultivares SCSBRS Tio Taka e SCS118 Marquês não apresentaram transmissão do fungo para primeira folha, enquanto que foram observados valores de até 10,7% para cultivar Epagri 109 neste mesmo órgão.

Ao analisar as plântulas, não foram observados sintomas referentes a descoloração, escurecimento, clorose e lesões necróticas, independentemente do local, coleóptilo, coroa ou plúmula. Houve neste caso a comprovação da transmissão do fungo de forma assintomática até os 14 dias após a semeadura.

A taxa de transmissão de *M. albescens* para coroa não tem relação com sua incidência nos grãos, ou seja, pode haver maior taxa de transmissão em lotes de menor incidência do fungo. Neste estudo as taxas de transmissão para coroa em ambas as cultivares mantiveram-se em proporções semelhantes, próximas a 40%. Por outro lado, em estudo de Gutiérrez (2008) o fungo *M. albescens* foi detectado 30 dias após a semeadura, a uma taxa de transmissão de 2,2% para o coleóptilo em sementes com incidência de 55%.

A transmissão de fungos das sementes para plântulas pode ser afetada por diversos fatores, entretanto, a localização do fungo é considerada a mais importante no processo de transmissão (MAUDE, 1996; AGARWAL e SINCLAIR, 1997). Em estudo realizado por Singh e Sen Gupta (1981) o fungo *M. albescens* foi encontrado apenas em sementes não desinfestadas, indicando apenas sua localização externa. Contudo o fungo encontra-se também internamente à semente (MIA et al. 1986; MAUDE, 1996).

5.6 CONCLUSÕES

Há transmissão assintomática de *M. albescens* de sementes de arroz para coroa, coleóptilo e plúmula.

A semente é considerada uma das principais fontes de inóculo primário para a ocorrência de escaldadura nas lavouras de produção de grãos ou de sementes de arroz irrigado no sistema pré-germinado no estado de Santa Catarina.

6 CAPÍTULO 5 - EFEITO DA INCIDÊNCIA DO FUNGO *Microdochium albescens* NA QUALIDADE FISIOLÓGICA DAS SEMENTES DE DIFERENTES CULTIVARES DE ARROZ IRRIGADO.

6.1 RESUMO

O conhecimento do efeito do inóculo na semente é importante para conhecimento do nível de tolerância do patógeno pela semente. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da incidência do fungo *Microdochium albescens* na qualidade fisiológica das sementes de diferentes cultivares de arroz irrigado. O estudo foi realizado no laboratório de análises de sementes (LAS) e na casa de vegetação, localizado no Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV/UDESC) em Lages - SC. Utilizaram-se sementes dos cultivares SCSBRS Tio Taka, Epagri 109, SCS116 Satoru, SCS118 Marquês, SCS121 CL e SCS122 Miura, produzidas na Região do Alto Vale do Itajaí na safra 2016/17. Os lotes foram submetidos ao teste de sanidade de sementes, identificando-se quatro lotes por cultivar com incidência natural de *M. albescens*, sendo designado dois lotes de cada cultivar com incidência superior a 40% e igual ou inferior a 40% de incidência, totalizando 24 lotes de sementes. Foram realizadas as seguintes avaliações nos lotes: germinação, teste de envelhecimento acelerado, emergência em casa de vegetação aos 14 dias, índice de velocidade de emergência (IVE), velocidade de emergência (VE), comprimento de parte aérea, comprimento de raiz e massa fresca. O delineamento experimental

utilizado foi inteiramente casualizado em arranjo fatorial. Houve interação significativa entre cultivar e nível de incidência apenas nas variáveis germinação, vigor e comprimento de raiz. Para germinação, emergência e comprimento de raiz apenas a cultivar SCSBRS Tio Taka foi afetada. A massa fresca, comprimento da parte aérea e IVE não foram afetados, independente do cultivar e incidência do fungo na semente. Há influência do nível de incidência do patógeno *M. albescens* na semente sobre a qualidade fisiológica. Os cultivares de arroz irrigado SCS118 Marquês e SCSBRS Tio Taka são suscetíveis a alta incidência (> 40%) do fungo *M. albescens*.

Palavras-chave: Germinação, vigor, desempenho de plântula, patologia de sementes, *Oryza sativa*.

6.2 ABSTRACT

The knowledge of the effect of the inoculum on the seed is important for knowledge of the level of tolerance of the pathogen by the seed. Therefore, the aim of this work was to evaluate the effect of the incidence of the fungus *M. albescens* on the physiological quality of the seeds of different cultivars of irrigated rice. The study was carried out in the seed analysis laboratory (LAS) and in the greenhouse, located at the Center for Agricultural Sciences (CAV / UDESC) in Lages - SC. Seeds from cultivars SCSBRS Tio Taka, Epagri 109, SCS116 Satoru, SCS118 Marquês, SCS121 CL and SCS122 Miura, produced in the Alto Vale do Itajaí Region in the 2016/17 harvest, were used. The lots were submitted to the seed health test, identifying four lots per cultivar with a natural incidence of *M. albescens*, being designated two lots of each cultivar with incidence greater than 40% and equal to or less than 40% incidence, totaling 24 seed lots. The following evaluations were carried out on the lots: germination, accelerated aging test, emergence in a greenhouse at 14 days, emergency speed index (ESI), emergency speed (ES), shoot length, root length and mass fresh. The experimental design used was completely randomized in a factorial arrangement. There was a significant interaction between

cultivar and level of incidence only in the variables germination, vigor and root length. For germination, emergence and root length, only the SCSBRS Tio Taka cultivar was affected. Fresh mass, shoot length and IVE were not affected, regardless of cultivar and fungus incidence in the seed. There is an influence of the level of incidence of the pathogen *M. albescens* in the seed on the physiological quality. The irrigated rice cultivars SCS118 Marquês and SCSBRS Tio Taka are susceptible to a high incidence (> 40%) of the fungus *M. albescens*.

Keywords: Germination, vigor, seedling performance, seed pathology, *Oryza sativa*.

6.3 INTRODUÇÃO

Apesar dos níveis de produtividade de arroz irrigado do Estado de Santa Catarina estar entre os mais altos do Brasil, em alguns anos ocorre o decréscimo da produtividade devido às condições climáticas e meteorológicas adversas que favorecem a ocorrência de doenças (SOSBAI, 2018).

No Sul do Brasil, as doenças conhecidas como mancha-parda (*Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) Shoem) e escaldadura (*M. albescens* Hern. Restr. & Crous) tem ocorrido com maior frequência (CELMER et al., 2007), principalmente a escaldadura em altos níveis em todas as regiões produtoras de arroz do Brasil (LUDWIG et al., 2009).

As sementes são consideradas fonte de inóculo primário (WEBSTER & GUNNELL, 1992), e são responsáveis pela disseminação de inúmeros patógenos que causam importantes doenças na cultura do arroz (SILVA et al., 2014). *Microdochium albescens* é transmitido da semente para plântula de arroz irrigado (SCHEIDT et al., 2020b) provocando descoloração nas plântulas (GUTIÉRREZ, 2008). Os danos causados por *M. albescens*, devem-se a redução do número de semente por panícula e no seu peso, refletindo na qualidade das sementes cultivadas e ocasionando a diminuição do percentual de germinação (MALAVOLTA et al., 2002).

Apesar disso, atualmente a importância da qualidade sanitária das sementes de arroz está subestimada devido à escassez de estudos que comprovem o real impacto sobre a qualidade fisiológica e o desempenho das plântulas.

Testes de sanidade de sementes de arroz irrigado provenientes de lavouras catarinenses nas safras 2015 a 2018, realizados no Laboratório de Fitopatologia da Universidade do Estado de Santa Catarina (CAV/UDESC) revelaram prevalência de 100% e incidência média superior a 50% de *M. albescens* (SCHEIDT et al., 2020a).

Portanto, o conhecimento do efeito do inóculo na semente é importante para conhecimento do nível de tolerância do patógeno pela semente e quanto compromete o desempenho das plântulas. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da incidência do fungo *M. albescens* na qualidade fisiológica das sementes de diferentes cultivares de arroz irrigado.

6.4 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no laboratório de análise de sementes (LAS) e em casa de vegetação, localizada no Centro de Ciências Agroveterinárias, da Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, SC, Brasil. Foram utilizadas sementes das cultivares SCSBRS Tio Taka, Epagri 109, SCS116 Satoru, SCS118 Marquês, SCS121 CL e SCS122 Miura, produzidas no Alto Vale do Itajaí na safra 2016/17 e fornecidas pela cooperativa CRAVIL.

Vários lotes foram submetidos ao teste de sanidade das sementes no laboratório de fitopatologia, onde as sementes foram semeadas em meio de cultura batata-sacarose-ágar + antibiótico (BSA+A). As sementes foram desinfetadas com solução de hipoclorito de sódio (1%) por dois minutos, com posterior enxágue com água destilada e esterilizada. Para cada lote, foram analisadas quatro repetições de 100 sementes. As sementes foram colocadas em placas de Petri de acrílico e mantidas em câmaras de crescimento por sete a dez dias a 25°C e fotoperíodo de 12 horas. Posteriormente, foram identificadas quatro parcelas por cultivar com incidência natural de *M. albescens*, sendo dois lotes de cada cultivar com incidência maior que 40% e dois lotes igual ou menor que 40%.

A incidência média geral dos lotes abaixo e acima de 40% foram 30,5 e 84,0% (SCSBRS Tio Taka), 27,0 e 85,5% (Epagri 109), 30,5 e 84,5% (SCS116 Satoru), 14,0 e 70,0% (SCS118 Marquês), 16,0 % e 73,0% (SCS121CL), 23,0% e 42,5% (SCS122 Miura).

Para os testes de qualidade fisiológica realizados no LAS, as sementes foram inicialmente desinfetadas em solução de hipoclorito de sódio 1,5% por 3 minutos, seguida de lavagem com água estéril. Germinação era realizada com quatro repetições de 100 sementes para cada cultivar e incidência menor e maior que 40% do fungo na semente, em papel germitest umedecido três vezes o peso do papel seco e levado ao germinador a 25 ° C (BRASIL, 2009).

A primeira contagem ocorreu aos sete dias e a final ao décimo quarto dia, após a semeadura. No final do teste, o número de mudas normais, mudas anormais e sementes mortas foi registrado.

O teste de envelhecimento acelerado foi realizado em caixas de germinação, utilizando quatro repetições de 100 sementes para cada cultivar, estas separadas em lotes com incidência acima e abaixo de 40% do fungo *M. albescens*. As sementes foram dispostas em grade de aço inoxidável sobre 40 mL de água destilada e deionizada dentro das caixas gerbox e mantidas em câmara de envelhecimento acelerado a 41°C por 120 horas (ZUCHI & BEVILAQUA, 2012). Após esse período, as sementes foram desinfetadas e distribuídas em rolos de papel germitest, umedecidos com água três vezes o seu peso seco, e mantidos em germinador a 25 ° C (KRZYZANOWSKI et al., 1991). Em seguida, essas mesmas sementes foram submetidas ao teste de germinação conforme descrito acima.

A emergência da casa de vegetação consistiu na semeadura em quatro repetições de 50 sementes pré-germinadas de cada cultivar e incidência em bandejas contendo 5 cm de água. A pré-germinação foi realizada embebendo as sementes em água por 36 horas, seguida de outras 36 horas à sombra até o estágio de crescimento "S2" (SOSBAI, 2018). O índice de emergência (IE), velocidade de emergência (VE), porcentagem de emergência aos 14 dias (E), comprimento da parte aérea e da raiz e massa fresca foram avaliadas.

O índice de emergência (IE) foi determinado pela contagem do número de mudas emergidas no mesmo horário todos os dias. No final do teste, o IE foi calculado usando a fórmula de Maguire (1962).

$$IE = \frac{G_1}{N_1} + \frac{G_2}{N_2} + \frac{G_n}{N_n}$$

onde: IE = índice de emergência; G = número de mudas observadas em cada contagem; N = número de dias desde o plantio até a contagem.

A fórmula foi aplicada a cada repetição e a média aritmética calculada após todos os testes para obtenção do IE do lote de sementes. A avaliação da emergência de sementes pode seguir uma dimensão menos proporcionalidade.

A velocidade de emergência (VE) também foi calculada com base no número de mudas emergidas observadas no mesmo horário todos os dias, utilizando a fórmula proposta por Edmond & Drapala (1958):

$$VE = \frac{(N_1 G_1) + (N_2 G_2) + \dots + (N_n G_n)}{G_1 + G_2 + G_n}$$

onde: VE = velocidade de emergência (dias); G = número de mudas observadas em cada contagem; N = número de dias desde o plantio até a contagem. O resultado foi expresso em dias.

Os comprimentos da parte aérea e da raiz foram medidos em 20 plantas por repetição com paquímetro digital e os resultados expressos em milímetros. E depois foi determinada a massa fresca das plantas por meio de pesagem em balança e massa seca em estufa a 50 ° C por 48 horas, as quais foram pesadas e os resultados expressos em gramas.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado em arranjo fatorial. As médias de germinação e IVE foram transformadas por logRatio e qui-quadrado, respectivamente, para atender à homogeneidade. Posteriormente, foram submetidos ao teste de Tukey (5% de significância) por meio do software R (R CORE TEAM, 2017), versão 3.5.1.

6.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve interação significativa entre cultivares e nível de incidência nas variáveis germinação, vigor e comprimento de raiz. A germinação dos lotes com incidência de fungo na semente superior a 40% variou de 78% a 90%, enquanto os lotes com incidência igual ou inferior a 40% variaram de 82% a 89%. As cultivares SCSBRS Tio Taka e SCS118 Marquês tiveram sua germinação afetada negativamente, diferindo estatisticamente, apresentando 78% e 81%, respectivamente (Tabela 1).

Nas demais cultivares não houve efeito sobre o nível de infestação do patógeno. Ao contrário do observado por Prabhu & Vieira (1989) que relataram que a intensidade da mancha marrom nas sementes afeta a germinação, apresentando uma relação linear negativa. Como Malavolta et al. (2002) que também observaram que *B. oryzae* causando a mancha marrom afeta negativamente a germinação de sementes de arroz.

O vigor devido ao envelhecimento acelerado dos lotes com incidência de fungos na semente superior a 40% variou de 71% a 83%, enquanto nos lotes com incidência igual ou inferior a 40% variou de 63% a 85%. Apenas as cultivares SCS116 Satoru e SCS109 Epagri diferiram estatisticamente, apresentando 63% e 75% do vigor, respectivamente, na incidência do fungo igual ou inferior a 40% (Tabela 1). Esse comportamento poderia ter ocorrido se o patógeno tivesse infestado uma região próxima ao embrião, o que afetaria o desempenho dessas sementes.

A emergência em casa de vegetação de cultivares com incidência de fungo na semente superior a 40% variou de 95% a 99%, enquanto em lotes com incidência igual ou inferior a 40%, apresentou em torno de 98%. Apenas a cultivar SCSBRS Tio Taka foi afetada negativamente, com emergência de 95% em uma incidência maior que 40% (Tabela 1).

Tabela 5 - Germinação, Vigor pelo envelhecimento acelerado, emergência, massa fresca, comprimento de parte aérea, comprimento de raiz, índice de velocidade de emergência e velocidade de emergência de sementes infectadas pelo fungo *Microdochium albescens*.

Cultivar	IS	G (%)	EA (%)	E (%)	MF (gr)	PA (cm)	R (cm)	IVE	VE (dias)
SCS122 Miura	> 40%	83 a ²	78 a	99 a	1.3 ns	22.4 ns	11.6 a	40.2 ns	1.5 a
	≤ 40%	82 a	81 a	100 a	1.2 ns	22.2 ns	11.4 a	43.0 ns	1.3 a
SCS118 Marquês	> 40%	78 b	81 a	99 a	1.3 ns	23.3 ns	13.5 a	42.5 ns	1.3 b
	≤ 40%	82 a	79 a	98 a	1.1 ns	22.5 ns	12.1 a	37.2 ns	1.6 a
SCSBRS Tio Taka	> 40%	81 b	83 a	95 b	1.1 ns	22.1 ns	10.1 b	38.9 ns	1.6 b
	≤ 40%	84 a	82 a	99 a	1.1 ns	23.0 ns	12.8 a	33.6 ns	1.9 a
SCS121 ClearField	> 40%	83 a	83 a	97 a	1.2 ns	22.6 ns	11.2 a	37.2 ns	1.6 a
	≤ 40%	89 a	85 a	99 a	1.1 ns	24.1 ns	10.2 a	37.8 ns	1.6 a
SCS116 Satoru	> 40%	87 a	71 a	100 a	1.2 ns	24.5 ns	10.6 a	35.2 ns	1.7 a
	≤ 40%	85 a	63 b	99 a	1.2 ns	22.9 ns	10.2 a	35.9 ns	1.6 a
Epagri 109	> 40%	90 a	83 a	99 a	1.3 ns	22.0 ns	12.6 a	38.1 ns	1.6 a
	≤ 40%	87 a	75 b	98 a	1.3 ns	23.0 ns	11.7 a	35.4 ns	1.7 a
	CV (%)	7.1	7.2	2.8	17.0	9.0	16.2	11.8	17.7

¹Médias seguidas pela letra minúscula na coluna não diferem entre si na cultivar pelo teste de Tukey a 5%.

IS (Incidência na semente); G (Germinação); EA (Vigor pelo envelhecimento acelerado); E (Emergência); MF (Massa fresca); PA (Parte aérea); R (Raiz); IE (Índice de emergência); VE (Velocidade de emergência).

Conforme observado nas cultivares SCS118 Marquês e SCSBRS Tio Taka, a presença de determinados patógenos nas sementes pode resultar em efeitos diretos, como redução do potencial de germinação, vigor, emergência, período de armazenamento e até produtividade (ITO & TANAKA, 1993) .

Porém, para nas demais cultivares não houve influência da incidência do patógeno na qualidade fisiológica. Como o fungo *M. albescens* tem maior capacidade de infectar o endosperma do que o embrião (MANANDHAR, 1999; SCHEIDT et al., 2020c), que é a parte vital da semente, ele consegue se desenvolver e formar uma muda normal.

A massa fresca, o comprimento da parte aérea e o índice de emergência não foram afetados, independentemente da cultivar e da incidência do fungo na semente (Tabela 1). Semelhante ao observado por Malavolta et al. (2007) que também não observaram diferença significativa na altura das mudas infectadas com *B. oryzae*.

O comprimento da raiz na cultivar SCSBRS Tio Taka ficou comprometido, diferindo estatisticamente e mostrando uma redução para 10 cm de raiz na incidência do fungo na semente acima de 40% (Tabela 1), indicando que o patógeno, neste caso, limitou a desenvolvimento da raiz da muda, possivelmente devido à sua localização na semente.

As cultivares SCS118 Marquês e SCSBRS Tio Taka diferiram estatisticamente na velocidade de emergência no nível de incidência do fungo na semente maior que 40%, apresentando aproximadamente 1,3 e 1,6 dias respectivamente para emergir (Tabela 1). Nessas cultivares, a colonização de *M. albescens* no endosperma da semente pode ter sido uma barreira física ao desenvolvimento da muda, limitando o comprimento da raiz. Porém, há influência do nível de incidência do patógeno *M. albescens* na semente sobre a qualidade fisiológica.

6.6 CONCLUSÕES

Existe influência do nível de incidência do patógeno *M. albescens* na semente sobre a qualidade fisiológica.

A presença de *M. albescens* infectando sementes de arroz irrigado pode afetar negativamente a qualidade fisiológica das sementes, com redução na germinação, vigor, comprimento de raiz e velocidade de emergência.

7 CAPÍTULO 6 - CONTROLE DE *Microdochium albescens* EM TRATAMENTO DE SEMENTES DE ARROZ IRRIGADO NO SISTEMA DE CULTIVO PRÉ-GERMINADO E SEQUEIRO.

7.1 RESUMO

O fungo *Microdochium albescens* pode interferir na germinação de sementes e na emergência de plântulas de arroz, porém não há indicação técnica para seu controle via tratamento de semente. Este trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência de fungicidas em tratamento de sementes de arroz pré-germinado e sequeiro no controle de *M. albescens*. Sementes dos cultivares Epagri 109, SCS116 Satoru, SCS121 CL e SCS122 Miura foram tratadas com fluazinam + tiofanato metílico (9,45 + 63 g de i.a.), piraclostrobina + tiofanato metílico (5 + 45 g de i.a.), carboxina + tiram (60 + 60 g de i.a.), metalaxil-M + tiabendazol + fludioxonil (3 + 22,5 + 3,75 g de i.a.), carbendazim + tiram (45 + 105 g de i.a.), carbendazim (45 g de i.a.) por 100 kg⁻¹ de sementes. As sementes tratadas foram semeadas em meio de cultura batata-sacarose-ágar + antibiótico (BSA+A) e incubadas a 25 ± 2°C e fotoperíodo de 12

horas por 14 dias. Sementes tratadas também foram submetidas ao teste de germinação. Fluazinam + tiofanato metílico e metalaxil-M + tiabendazol + fludioxonil apresentaram maior controle de *M. albescens*, não diferindo estatisticamente entre si, nas quatro cultivares e nos dois sistemas de cultivo. Os fungicidas testados proporcionaram germinação das sementes superior a 90% nas quatro cultivares.

Palavras-chave: *Oryza sativa*, sistema de cultivo, fungicida, sementes.

7.2 ABSTRACT

The fungus *M. albescens* can interfere in the germination of seeds and in the emergence of rice seedlings, however there is no technical indication for its control via seed treatment. This work aimed to evaluate the efficiency of fungicides in pre-germinated and upland rice seed treatment in the control of *M. albescens*. Seeds from the cultivars Epagri 109, SCS116 Satoru, SCS121 CL and SCS122 Miura were treated with fluazinam + methyl thiophanate (9.45 + 63 g ia), pyraclostrobin + methyl thiophanate (5 + 45 g ia), carboxine + tiram (60 + 60 g ia), metalaxyl-M + thiabendazole + fludioxonil (3 + 22.5 + 3.75 g ia), carbendazim + tiram (45 + 105 g ia), carbendazim (45 g ai) per 100 kg⁻¹ of seeds. The treated seeds were sown in a potato-sucrose-agar + antibiotic (PSA+A) culture medium and incubated at 25 ± 2°C and a photoperiod of 12 hours for 14 days. Treated seeds were also submitted to the germination test. Fluazinam + methyl thiophanate and metalaxyl-M + thiabendazole + fludioxonil showed greater control of *M. albescens*, which did not differ statistically between them, in the four cultivars and in the two culture systems. The tested fungicides provided seed germination greater than 90% in the four cultivars.

Keywords: *Oryza sativa*, cultivation system, fungicide, seeds.

7.3 INTRODUÇÃO

A escaldadura, causada pelo fungo *M. albescens*, tem sido relatada em todas as regiões produtoras de arroz no mundo (FARR et al., 2008). As sementes são

consideradas fonte de inóculo primário (OU, 1985; WEBSTER & GUNNELL, 1992), e a transmissão do fungo em cultivo de sequeiro ocorre através de sementes infectadas provocando descoloração nas plântulas (FILIPPE et al., 2005; GUTIÉRREZ, 2008). A escaldadura reduz o número, peso e qualidade fisiológica de sementes (MOURA et al., 2014), causando até 30% de danos no rendimento (THOMAS, 1984). Contudo, as empresas buscam atender aos padrões de comercialização de sementes e com isso adotam medidas para o controle de qualidade utilizando testes fisiológicos, como o teste de germinação e de vigor, e alternativas para manutenção da qualidade através do tratamento de sementes.

Testes de sanidade de sementes de arroz irrigado provenientes de lavouras catarinenses, realizados no Laboratório de Fitopatologia da Universidade do Estado de Santa Catarina nas safras 2015/16, 2016/17 e 2017/18 revelaram prevalência de 100% de *M. albescens* e incidência média superior a 50% dos lotes analisados (Scheidt, et al., 2020a). De acordo com o Departamento Técnico da Cooperativa Cravil, responsável pela maior produção de sementes de arroz irrigado no estado de Santa Catarina, a ocorrência da escaldadura aumentou consideravelmente nas lavouras de arroz irrigado no sistema de cultivo pré-germinado.

Em culturas como soja e milho, o tratamento de sementes (TS) vem sendo utilizado visando o controle de fungos, associados à semente, entretanto, em arroz esta prática não ocorre com a mesma frequência, principalmente no sistema de cultivo pré-germinado, onde não constam informações e indicações (SOSBAI, 2018).

O TS de arroz visa controlar fungos infectando e infestando sementes, fungos de solo e também insetos em caso do uso de inseticida em adição ao fungicida, protegendo, desta forma, a plântula nos estágios iniciais da cultura. É fundamental o seu uso para assegurar a germinação, emergência, formação da plântula, e consequente população de plantas, associado ao rendimento da cultura (MENTEN & MORAES, 2010).

O TS é considerado uma das práticas culturais de baixo custo no controle de patógenos em arroz de terras altas (KIMATI et al., 1997), porém, não constam informações sobre o efeito de fungicidas no TS visando o controle de *M. albescens* no sistema de cultivo de arroz pré-germinado (SOSBAI, 2018). Acredita-se que o produto seja diluído em água e tenha sua eficiência reduzida e/ou que haja uma

possível eliminação dos patógenos no processo de pré-germinação e subsequente semeadura em lâmina de água nas lavouras. Contudo, o fungo é transmitido da semente para a plântula neste sistema (SCHEIDT et al., 2020b), indicando que a eliminação dos patógenos das sementes não ocorre pela imersão delas em água.

Este trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência de fungicidas em tratamento de sementes de arroz pré-germinado e sequeiro no controle de *M. albescens*.

7.4 MATERIAL E MÉTODOS

Os estudos foram conduzidos in vitro no Laboratório de Fitopatologia da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), Lages-SC, sob delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 x 7 x 2 (sistemas de cultivo x tratamento de sementes x dias de avaliação do efeito do TS).

Utilizaram-se sementes dos cultivares Epagri 109, SCS116 Satoru, SCS121 CL e SCS122 Miura, produzidas no Alto Vale do Itajaí na safra 2017/18. Cada cultivar constituiu um estudo isolado. Para cada cultivar foram avaliados sete tratamentos de semente, sendo seis fungicidas e uma testemunha, onde: T1- fluazinam + tiofanato metílico (9,45 + 63 g de i.a. (Certeza®); T2- piraclostrobina + tiofanato metílico (5 + 45 g de i.a.) (Standak Top®); T3- carboxina + tiram (60 + 60 g de i.a.) (Vitavax Thiram®); T4- metalaxil-M + tiabendazol + fludioxonil (3 + 22,5 + 3,75 g de i.a) (Maxim Advanced®); T5- carbendazim + tiram (45 + 105 g de i.a) (Derosal Plus®); T6- carbendazim (45 g de i.a) (Carbendazim Nortox®) em doses de produtor comercial 100 kg de semente-1 e T7- testemunha, não tratada (Figura 4). O TS foi realizado em laboratório, via úmida (2% de calda), utilizando-se 1 kg de sementes por tratamento. Após a aplicação dos produtos, as sementes foram acondicionadas em sacos plásticos, para homogeneização. Em seguida, foram postas para secagem à sombra e embaladas em sacos de papel, até o início dos testes.

Figura 9 - Detalhe das sementes de arroz tratadas com fungicidas, Lages 2018.



Fonte: Produção do próprio autor (2018).

Após tratadas, foram separadas 400 sementes de cada tratamento para simular cada sistema de cultivo, onde, no sistema pré-germinado as sementes foram previamente imersas em água (proporção 1:10, semente:água) durante 30 horas, com posterior retirada e manutenção das mesmas em bandeja plástica na sombra pelo mesmo período para induzir o processo germinativo (sementes no “ponto de agulha”) estágio fenológico para semeadura S3 (COUNCE, 2000; SOSBAI, 2018). Para o sistema de sequeiro as sementes foram tratadas e não submetidas ao processo de pré-germinação.

As sementes tratadas foram submetidas ao teste de sanidade semeando-as em meio de cultura batata-sacarose-ágar + antibiótico (BSA+A). As placas foram incubadas durante sete e quatorze dias em câmara de crescimento sob temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas. Consideraram-se infectadas as sementes sob as quais foi possível a identificação morfológica de colônias e/ou estruturas do fungo *M. albescens* observadas sob lupa binocular e/ou lâmina em microscópio ótico.

Para a análise da germinação foram utilizadas, para cada tratamento, quatro repetições de 100 sementes semeadas em papel germitest®, umedecido com água destilada em três vezes o peso do papel, mantidos a 25°C em câmaras próprias para germinação. A contagem das plântulas normais foi realizada após sete e quatorze dias da semeadura, computando-se a percentagem de plântulas normais.

As variáveis avaliadas foram submetidas à análise de variância e quando constatadas interações ou efeitos simples significativos às médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro. Foram verificadas as pressuposições da normalidade dos resíduos e homogeneidade de variância através da análise de diagnóstico. Quando necessário, realizaram-se transformações para $\sqrt{(x / 100)}$ para atender as pressuposições.

7.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as cultivares apresentaram germinação superior a 80% em ambos os tratamentos, valor este, mínimo exigido para a comercialização de sementes de arroz no Brasil (BRASIL, 2013). Nenhum TS utilizado ocasionou redução da germinação em relação à testemunha, demonstrando que não houve fitotoxicidade nas doses utilizadas (Tabela 1). Fitotoxicidade também não foi observada por Lobo (2008) quando utilizou TS com carboxim + thiram (60 + 60g i.a), tricyclazole (225g i.a), azoxystrobin (100g i.a) e pyroquilon (400g i.a).

Tabela 6 - Porcentagem de germinação de sementes de arroz das cultivares SCS121 CL, SCS122 CL, Epagri 109 e SCS116 Satoru, submetidas a diferentes tratamentos de sementes.

Tratamento	SCS121 CL			SCS122 Miura		
	Normal	Anormal	Morta	Normal	Anormal	Morta
T1	90 ab	4 ab	6 ab	91 b	4 c	5 b
T2	88 bc	6 ab	6 ab	85 c	10 a	5 b
T3	90 ab	3 bc	7 a	94 ab	3 c	3 b
T4	92 a	1 c	7 a	95 a	0 d	5 b
T5	92 a	3 bc	5 ab	92 ab	4 c	4 b
T6	91 ab	5 ab	4 b	91 b	5 bc	4 b

T7	86 c	7 a	7 a	83 c	8 ab	9 a
Média	90 A	4 B	6 B	90A	5B	5B
EPAGRI 109			SCS116 Satoru			
T1	92 bc	6 a	2 b	92 bc	4 ab	4 ab
T2	91 c	5 ab	4 b	88 cd	7 a	5 ab
T3	94 ab	3 bc	3 b	94 b	3 b	3 b
T4	96 a	1 c	3 b	97 a	1 c	2 b
T5	92 bc	5 ab	3 b	92 bc	4 ab	4 ab
T6	93 bc	3 bc	4 b	93 b	4 ab	3 ab
T7	86 d	6 a	8 a	88 d	6 a	6 a
Média*	92 A	4 B	4 B	92 A	4 B	4 B
CV (%)	16,4			16,4		

T1) fluazinam + tiofanato metílico; T2) piraclostrobina + tiofanato metílico; T3) carboxina + tiram; T4) metalaxil-M + tiabendazol + fludioxonil; T5) carbendazim + tiram; T6) carbendazim; T7) testemunha.

*Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

O fluazinam + tiofanato metílico, carboxina + tiram, metalaxil-M + tiabendazol + fludioxonil, carbendazim + tiram e carbendazim mantiveram os melhores percentuais de germinação para o cultivar SCS121 CL, no entanto, piraclostrobina + tiofanato metílico e carboxina + tiram não diferiram da testemunha (Tabela 1).

Para o cultivar SCS122 Miura, carboxina + tiram, metalaxil-M + tiabendazol + fludioxonil e carbendazim + tiram apresentaram os maiores e piraclostrobina + tiofanato metílico o menor percentual de germinação não diferindo da testemunha (Tabela 1). Segundo Prabhu & Vieira (1989) sementes de arroz, tratadas com carboxim + tiram apresentaram manutenção da germinação e melhor sanidade das plântulas. O mesmo foi observado em sementes de algodão (FARIA et al., 2003), e de sorgo (NETTO et al., 1977) utilizando-se dos mesmos ativos. Lenz (2008), utilizando tratamento de sementes com carboxina + thiram observou que o mesmo não interferiu nas características de germinação, emergência e índice de velocidade de emergência de plântulas de arroz.

Para os cultivares SCS122 Miura e Epagri 109 todos os tratamentos tiveram a percentagem menor de plântulas mortas em comparação com a testemunha. A maior percentagem de plântulas anormais foi verificada no cultivar SCS122 Miura

com o tratamento piraclostrobina + tiofanato metílico, onde não diferiu da testemunha.

Independentemente do cultivar, o fungicida carbendazim teve a mesma incidência do fungo e controle aos 7 e 14 dias. Isso se deve ao fato que aos sete dias todas as sementes da placa de petri estavam com algum fungo presente nelas, principalmente fungos da família dematiaceae, onde carbendazim não tem ação fungitóxica sobre os mesmos.

Nas cultivares Epagri 109 e SCS116 Satoru o TS com metalaxil-M + tiabendazol + fludioxonil se destacou com os maiores valores percentuais de germinação, porém na cultivar Epagri 109, fluazinam + tiofanato metílico, piraclostrobina + tiofanato metílico, carbendazim + tiram e carbendazim não tiveram diferenças estatísticas. Para cultivar SCS116 Satoru a piraclostrobina + tiofanato metílico obtiveram os menores valores de germinação não diferindo da testemunha (Tabela 1).

A incidência de *M. albescens* presente nas sementes utilizadas no experimento foi suficiente para discriminar os fungicidas quanto à sua eficiência (Tabela 2). Todos os tratamentos testados obtiveram percentuais de controle do fungo associado às sementes, no entanto, houve diferenças significativas de controle em função do ingrediente ativo (Tabela 3).

Tabela 7 - Percentual de incidência de *Microdochium albescens* (%) com diferentes tratamentos de sementes de arroz pré-germinado e de sequeiro das cultivares SCS121 CL, Epagri 109, SCS116 Satoru e SCS122 Miura.

Trat	SCS 121 CL				Epagri 109			
	Sequeiro		Pré-germinado		Sequeiro		Pré-germinado	
	7	14	7	14	7	14	7	14
T1	5,5 dAI	6,0 dAI	5,0 dAI	6,5 eAI	4,5 cAI	5,5 eAI	5,0 dAI	5,5 eAI
T2	25,5 cBI	32,0 bAI	55,0 bBV	65,0 aAV	20,0 bBI	26,0 cAI	40,0 bAV	45,5 bAV
T3	6,0 dBI	22,0 cAI	20,0 cBV	38,0 cAV	7,5 cBI	16,5 dAI	15,0 cBV	31,5 cAV
T4	6,5 dBI	11,0 dAI	7,5 dAI	10,0 eAI	8,0 cAI	8,5 deAI	9,0 cdAI	12,0 deAI
T5	5,5 dBI	21,5 cAI	17,5 cAV	22,0 dAI	8,0 cAI	12,5 deAI	11,5 cdAI	15,5 dAI
T6	36,0 bAI	36,0 bAI	59,5 bAV	59,5 bAV	27,0 bAI	27,0 bAI	51,5 bAV	51,5 bAV
T7	52,0 aAI	52,0 aAI	75,0 aAV	75,0 aAV	45,0 aAI	45,0 aAI	60,0 aAV	60,0 aAV
Média	19,6 BI	27,4 AI	34,2 BV	42,4 AV	17,3 BI	21,4 AI	26,8 BV	31,6 AV
C.V. (%)	10,73				16,87			
Trat	SCS 116 Satoru				SCS 122 Miura			
	Sequeiro		Pré-germinado		Sequeiro		Pré-germinado	
	7	14	7	14	7	14	7	14
T1	4,5 cAI	6,0 eAI	5,5 dAI	6,5 dAI	5,0 dAI	5,5 dAI	5,0 eAI	6,0 eAI
T2	28,5 bBI	35,0 bcAI	38,0 cBV	43,0 bAI	22,0 cBI	37,0 bAI	50,0 bBV	57,5 bAV
T3	5,5 cBI	18,0 cAI	9,5 dBI	22,0 cAV	6,0 dBI	23,0 cAI	28,5 cBV	37,0 cAI
T4	7,5 cAI	9,0 deAI	8,5 dAI	10,5 dAI	7,0 dAI	8,5 dAI	5,0 eAI	7,0 eAI
T5	9,5 cBI	15,0 dAI	13,0 dBI	19,0 cAI	7,0 dBI	20,0 cAI	16,5 dBV	24,0 dAI
T6	28,0 bAI	28,0 cAI	58,0 bAV	58,0 aAV	32,0 bAI	32,0 bAI	50,0 bAV	50,0 bcAV
T7	47,0 aAI	47,0 aAI	66,0 aAV	66,0 aAV	62,0 aAI	62,0 aAI	78,0 aAV	78,0 aAV
Média	18,6 BI	24,8 AI	27,6 BV	33,3 AV	19,7 BI	29,6 AI	32,9 BV	37,6 AV
C.V. (%)	14,03				16,25			

T1) fluazinam + tiofanato metílico; T2) piraclostrobina + tiofanato metílico; T3) carboxina + tiram; T4) metalaxil-M + tiabendazol + fludioxonil; T5) carbendazim + tiram; T6) carbendazim; T7) testemunha.

*Médias seguidas pela mesma letra, minúsculas na coluna, maiúsculas na linha e números romanos entre sistemas, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Independente da cultivar, os ingredientes ativos fluazinam + tiofanato metílico e metalaxil-M + tiabendazol + fludioxonil não apresentaram diferenças estatísticas para as variáveis dias e sistemas de cultivo, obtendo os menores percentuais de incidência (Tabela 2) e maior controle do fungo (Tabela 3), comprovando a maior eficiência e persistência destes produtos em relação aos demais.

Tabela 8 - Percentual de controle de *Microdochium albescens* com diferentes tratamentos de sementes de arroz das cultivares SCS121 CL, Epagri 109, SCS116 Satoru e SCS122 Miura, nos sistemas de cultivo, sequeiro e pré-germinado.

Trat	SCS 121 CL				Epagri 109			
	Sequeiro		Pré-germinado		Sequeiro		Pré-germinado	
	7	14	7	14	7	14	7	14
T1	89,4	88,5	93,3	91,3	90,0	87,8	91,0	90,8
T2	50,9	38,0	26,7	13,3	55,5	42,2	33,3	24,2
T3	88,5	57,0	73,3	50,7	83,3	63,3	75,0	47,5
T4	87,5	78,8	90,0	86,7	82,2	81,1	85,0	80,0
T5	89,4	58,6	76,6	70,7	82,2	72,2	80,0	74,2
T6	30,8	30,8	20,7	20,7	40,0	40,0	14,2	14,2
Média (%)	72,8	58,6	63,4	55,6	72,2	64,4	63,1	55,2
Trat	SCS 116 Satoru				SCS 122 Miura			
	Sequeiro		Pré-germinado		Sequeiro		Pré-germinado	
	7	14	7	14	7	14	7	14
T1	90,4	87,2	91,7	90,2	91,0	91,1	93,0	92,3
T2	39,4	25,5	42,4	34,8	64,5	40,3	35,8	26,3
T3	88,3	61,0	85,6	66,0	90,3	62,9	63,5	52,55
T4	84,0	80,8	87,1	84,1	88,7	86,3	93,6	91,0
T5	79,7	68,1	80,3	71,2	88,7	67,7	78,8	69,2
T6	40,4	40,4	12,12	12,12	48,4	48,4	35,9	35,9
Média (%)	70,4	60,5	66,5	59,7	78,6	66,1	66,8	61,2

T1) fluazinam + tiofanato metílico; T2) piraclostrobina + tiofanato metílico; T3) carboxina + tiram; T4) metalaxil-M + tiabendazol + fludioxonil; T5) carbendazim + tiram; T6) carbendazim; T7) testemunha.

Contudo, os tratamentos com piraclostrobina + tiofanato metílico e carbendazim apresentaram maior percentual de incidência de fungos nas sementes, caracterizando menor controle, para ambos os sistemas. De acordo com Garcia Junior (2008) os fungicidas tiabendazole e tiofanato metílico foram superiores ao triflumizol e triadimenol no tratamento de sementes de trigo para controle de *Fusarium graminearum*. Segundo Agostinetto et al. (2018) as misturas de fungicidas com a presença de carbendazim e/ou do carboxina + tiram tiveram maior controle de *F. graminearum* em sementes de cevada. Da mesma forma, Henning et al. (2009), utilizando tratamento de sementes em aveia preta determinaram que os fungicidas carbendazim + tiram erradicaram os fungos do gênero *Fusarium* das sementes.

Os ingredientes ativos carboxina + tiram e carbendazim + tiram foram mais eficientes no controle até aos sete dias, no sistema de cultivo de sequeiro em relação ao sistema pré-germinado, porém mesmo em sequeiro, não foram persistentes até os 14 dias (Tabela 2 e 3). Lobo (2008), ao avaliar a qualidade fitossanitária de sementes de arroz sob o tratamento químico com carboxim + thiram (60 + 60g i.a.) e tricyclazole (225g i.a) observou controle de 100% para *M. albescens*

quando este incidia em 22,5% das sementes (testemunha). Vale ressaltar que a incidência média de *M. albescens* neste estudo é elevada (maior ou igual a 45%), o que reduz a possibilidade de ocorrência de controles de 100%.

A incidência média de *M. albescens* nas sementes da testemunha foi maior no sistema de cultivo pré-germinado, independente do cultivar. Isso pode ser explicado porque ao colocar as sementes para pré-germinar, o embrião, inicialmente protegido e possivelmente infectado, se exterioriza. Desta forma, há um aumento na probabilidade de detecção em relação às sementes de sequeiro, já que, o fungo internamente à semente se exterioriza junto à radícula (Tabelas 2).

Não existem informações para o tratamento químico de sementes de arroz irrigado no sistema de cultivo pré-germinado. Desta forma, as informações obtidas nesse estudo são de grande importância para o manejo de *M. albescens* neste sistema. Indica-se a realização de trabalhos visando avaliar ingredientes ativos de forma isolada assim como diferentes doses a fim de dar maior suporte a esta pesquisa.

7.6 CONCLUSÕES

Os tratamentos de sementes com fluazinam + tiofanato metílico, carboxina + tiram, metalaxil-M + tiabendazol + fludioxonil, carbendazim + tiram apresentam controle superior a 70% do fungo *M. albescens* até aos sete dias após a semeadura de sementes de arroz pré-germinado e sequeiro em meio de cultura BSA+A.

Os ingredientes ativos fluazinam + tiofanato metílico e metalaxil-M + tiabendazol + fludioxonil apresentam maior eficiência e persistência aos 7 e 14 dias após a semeadura de sementes de arroz pré-germinado e sequeiro em meio de cultura BSA+A em comparação a piraclostrobina + tiofanato metílico, carboxina + tiram, carbendazim + tiram e carbendazim com controle superior a 80%.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A escaldadura tem se tornado uma das doenças de maior frequência e importância nas lavouras de arroz irrigado no Sul do Brasil. A dificuldade de controle da doença devido a monocultura faz aumentar ainda mais o inóculo no campo. O

fungo *Microdochium albescens* vem sendo encontrado com frequência nos testes de sanidade de sementes de arroz irrigado. Contudo há carência de informações sobre esse patossistema.

Com base nos resultados deste trabalho pode-se concluir que o fungo *M. albescens*: é o principal patógeno encontrado nas sementes de arroz irrigado no sistema de cultivo pré-germinado no Estado de Santa Catarina; há sua transmissão da semente para a plântula no sistema de cultivo pré-germinado; sobrevive nas sementes durante a entressafra; afeta a qualidade fisiológica das sementes e há moléculas químicas disponíveis com alta eficiência para o tratamento de sementes.

As informações obtidas serão relevantes para futuros estudos relacionados à resistência genética e principalmente para o manejo correto da escaldura.

9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, H.M. Testes de sanidade de sementes de arroz. In: SOAVE, J. & WETZEL, M.M.V.S. (Eds.) **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. cap.15, p. 358-370.

AGARWAL, V.K; SINCLAIR, J.B. **Principles of seed pathology**. 3rd ed. Boca Raton: CRC Press, 1997. 555p.

AGOSTINETTO, L.; CASA, R.T.; BOGO, A.; FINGSTAG, M.D.; VALENTE, J.B. Viabilidade e controle de *Fusarium graminearum* em sementes de cevada. **Summa Phytopathologica**, v.44, n.4, p.368-373, 2018.

AVIS, P.G.; DICKIE, I. A.; MUELLER, G. M. A 'dirty' business: testing the limitations of terminal restriction fragment length polymorphism (TRFLP) analysis of soil fungi. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 15, n. 3, p. 873-882, 2006.

BARNETT, H.L.; HUNTER, B.B. Illustred genera of imperfect fungi. **The American Phytopathological Society**. St. Paul. 1998. 218 p.

BENOIT A.M.; S.B. MATHUR: Identification of species of *Curvularia* on rice seed. Int. **Seed Testing Ass Proc**. 35: 99-119, 1970.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Teste de sanidade de sementes**. In: Regras para a análise de sementes. Brasília: MAPA/ACS, 2009, Cap.9, p.335-340.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº. 45 de 17 de setembro de 2013**. Brasília: MAPA, 2013. 22 p.

AVIS, P.G.; DICKIE, I. A.; MUELLER, G. M. A 'dirty'business: testing the limitations of terminal restriction fragment length polymorphism (TRFLP) analysis of soil fungi. **Molecular Ecology**, Oxford, v. 15, n. 3, p. 873-882, 2006.

CASA, R.T.; KUHNE, P.R.; BOGO, A.; BELANI, A.M.M.; BOLZAN, J.M.; OLIVEIRA, F.S.; BLUM, M.M.C. Survey, survival and control of *Alternaria alternata* in wheat seeds. **Revista Brasileira de Sementes**. v.34, p.358-365, 2012.

CELMER, A.; MADALOSSO, M.G.; DEBORTOLI, M.P.; NAVARINI, L.; BALARDIN, R.S. Chemical control of irrigated rice diseases. **Pesquisa agropecuária brasileira**. v.42, p.901-904, 2007.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos, Brasília, DF, v. 8, safra 2020/21, n. 9, nono levantamento, junho. 2021.

EDMOND, J. B.; DRAPALA, W.J. The effects of temperature, sand and soil, and acetone on germination of okra seeds. **Proceedings of American Society of**

Horticultural Science. v.71, p.428-434, 1958.

EINAN, E.; VOLGT, K. Oligonucleotide primers for the universal amplification of β -tubulin genes facilitate phylogenetic analyses in the regnum fungi. **Organisms Diversity & Evolution**, v.3, p.185-194, 2003.

EPAGRI/CEPA. Boletim Agropecuário. Maio/2021. Florianópolis, 2021, 49p. (Epagri. Documentos, 339). Disponível em: https://docweb.epagri.sc.gov.br/website/cepa/Boletim_agropecuario/boletim_agropecuario_n96.pdf.

FAIAD, M.G.R.; MACHADO, J.C.; VIEIRA, M.G.G.C.; CORNELIO, V.M.O. Efeitos e transmissibilidade de *Gerlachia oryzae* (Hash. and Yok.) Gams em sementes de arroz (*Oryza sativa* L.). **Ciência e Prática**, v.17, n.4. p.357-362, 1993.

FAO. **Seguimiento del Mercado del Arroz de la FAO (SMA)**, 27 de abril de 2018. Online. Disponível em: <http://www.fao.org/3/I9243ES/i9243es.pdf>.

FARIAS, C.R.J.; AFONSO, A.P.S.; BRANÇÃO, M.F.; PIEROBOM, C.R. Incidência de fungos associados a sementes de arroz em seis regiões produtoras do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.14, p.487-490, 2007.

FARIA, A.Y.K.; ALBUQUERQUE, M.C.F.; CASSETARI NETO, D. Qualidade fisiológica de sementes de algodoeiro submetidas a tratamentos químicos e biológicos. **Revista Brasileira de Sementes**, v.25, p.121-127, 2003.

FARR, D.F.; ROSSMAN, A.Y. **Fungal Databases, Systematic Mycology and Microbiology Laboratory**, ARS, USDA, 2008. Online. Available from: <http://nt.arsgrin.gov/fungaldatabases/>.

FILIPPI, M.C.; PRABHU, A.S.; SILVA, G.B. **Escaldadura do arroz e seu controle**. Circular técnica 72. Santo Antônio de Goiás. Embrapa Arroz e Feijão. 2005, 4p.

FRANCO, D.F.; RIBEIRO, A.S.; NUNES, C.D.; FERREIRA, E. Fungos associados a sementes de arroz irrigado no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.7, p.235-236, 2001.

FUNGARO, M.H.P. PCR na micologia. **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento, Uberlândia**, v.3, n.14, p.12-16, 2000.

GARCIA JÚNIOR, D.; VECHIATO, M. H.; MENTEN, J.O.M. Efeito de fungicidas no controle de *Fusarium graminearum*, germinação, emergência e altura de plântulas em sementes de trigo. **Summa Phytopathologica**, v.34, p.280-283, 2008.

GLASS, D. J.; TAKEBAYASHI, N.; OLSON, L. E.; TAYLOR, D. L. Evaluation of the authenticity of a highly novel environmental sequence from boreal forest soil using ribosomal RNA secondary structure modeling. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, San Diego, v. 67, n. 1, p. 234-245, 2013.

GROTH, D. Leaf scald. In: WEBSTER, R.K; GUNNELL, P.S. (Eds.). Compendium of rice diseases. St. Paul: **American Phytopathological Society**, 1992. p. 18.

GUTIERREZ, S.A; CARMONA, M.A; REIS, E.M. Estudio preliminar sobre métodos de detección de *Microdochium oryzae* en semillas de arroz. **Tropical plant pathology**. v.34, p.42-44, 2009.

GUTIÉRREZ, S.A; REIS E.M; CARMONA, M.A. Detection and transmission of *Microdochium oryzae* from rice seed in Argentina. **Australian Plant Disease**. v.3, p.75-77, 2008.

JAKLITSCH, W.M, VOGLMAYR, H. 2012. Phylogenetic relationships of five genera of Xylariales and Rosasphaeria gen. nov. (Hypocreales). **Fungal Diversity**, v.52, p.75–98, 2012.

JEWELL, L.E, HSIANG, T. Multigene differences between *Microdochium nivale* and *Microdochium majus*. **Botany**, v.91, p.99-106. 2013.

HENNING, F.A.; MERTZ, L.M; ZIMMER, P.D; TEPLIZKY, M.D.F. Qualidade fisiológica, sanitária e análise de isoenzimas de sementes de aveia preta tratadas com diferentes fungicidas. **Revista Brasileira de Sementes**. v.31, p.63-69, 2009.

HERNÁNDEZ-RESTREPO M, GROENEWALD JZ, CROUS PW. Taxonomic and phylogenetic re-evaluation of *Microdochium*, *Monographella* and *Idriella*. **Persoonia**. v.36, p.57-82, 2016.

INDEX FUNGORUM. Disponível em:
<https://www.scielo.br/pdf/rbs/v31n3/a07v31n3.pdf>.

ITO, M. F.; TANAKA, M. A. S. **Soja - Principais doenças causadas por fungos, bactérias e nematóides**. Campinas: Fundação Cargil, 1993. p.1-2.

KIM, W.G; PARK, J.S and YU, S.H. Seed infection and damage to rice seeds and seedlings by seed-borne *Gerlachia oryzae*. **Korean Journal of Plant Protection**. v.23, p.126-131, 1984.

KIMURA M. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. **Journal of Molecular Evolution**, 16:111-120, 1980.

KIMATI, H.; GIMENES-FERNANDES, N.; SOAVE, J.; KUROSZAWA, C.; BRIGNANI NETO, F.; BETTIOL, W. Guia de fungicidas agrícolas. v.1. Recomendações por cultura. **Grupo Paulista de Fitopatologia**. 2. ed. Jaboticabal, 1997. 225p.

KISS, L. Limits of nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer (ITS) sequences as species barcodes for Fungi. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Allahabad, v. 109, n. 27, p. E1811-E1811, 2012.

KRZYZANOWSKI, F. C.; FRANÇA NETO, J. B.; HENNING, A. A. Relato dos testes de vigor disponíveis para grandes culturas. **Informativo ABRATES**, Londrina. v.1, n.2, p.15-50. 1991.

KUMAR, S.; STECHER, G.; LI, M.; KNYAZ, C.; TAMURA, K. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. **Molecular Biology and Evolution**, v.35, p.1547-1549, 2018.

LENZ, G.; COSTA, I. D.; ZEMOLIN, C. R.; KARKOW, D.; MELO, A. A.; SILVA, T. B. Fitotoxicidade de fungicidas aplicados em sementes de arroz (*Oryza sativa*), **Revista FZVA**. Uruguaiana, v.15, n.2, p.53-60. 2008.

LIMA, A.B.; FURTADO, M. *Curvularia* species (anamorphic fungi: Hyphomycetes) from Santiago island, Cape Vert. **Portugaliae Acta Biologica**, v. 22, p.145-156, 2007.

LIN CEREGHINO, G.P.L.; CREGG, J.M. Applications of yeast in biotechnology: protein production and genetic analysis. **Current Opinion in Biotechnology**, 10:422-427, 1999.

LINDNER, D. L.; CARLSEN, T.; HENRIK NILSSON, R.; DAVEY, M.; SCHUMACHER, T.; KAUSERUD, H. Employing 454 amplicon pyrosequencing to reveal intragenomic divergence in the internal transcribed spacer rDNA region in fungi. **Ecology and Evolution**, Oxford, v. 3, n. 6, p. 1751-1764, 2013.

LOBO, V. S. Efeito do tratamento químico de sementes de arroz no controle da brusone nas folhas e na qualidade sanitária e fisiológica das sementes. **Tropical Plant Pathology**. v.33, p.162-166, 2008.

LOPES, R.; LOPES, M.T.G.; FIGUEIRA, A.; CAMARGO, L.E.A. Marcadores moleculares dominantes (RAPD e AFLP). **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, v., n.29, p.56-60, 2002.

LOPPNAU, P.A.; BREUIL, C. Species level identification of conifer associated *Ceratocystis* sapstain fungi by PCR-RFLP on a β -tubulin gene fragmente. **FEMS Microbiology Letters**, 222:143-147, 2003.

LUDWIG, J; MOURA, A.B.; SANTOS, A.S; RIBEIRO, A.S. Seed microbiolization for the control of rice brown spot and leaf scald. **Tropical plant pathology**. v.34, p.322-328, 2009.

MALAVOLTA, V. M. A.; PARISI, J.J.D; TAKADA, H.M; MARTINS, M.C; Effect of different incidence levels of *Bipolaris oryzae* in rice seeds on physiological aspects, seed-seedling transmission and production. **Summa Phytopathologica**. v.28, 336–340.2002.

MALAVOLTA, V.M.A; SOLIGO, E.A; DIAS, D.D; AZZINI, L.E; BASTOS, C.R. Incidência de fungos e quantificação de danos em sementes de genótipos de arroz. **Summa Phytopathology**. v.33, p.280-286, 2007.

MATHUR, S. B. ; MALLYA, J. I. ; NEERGAARD, P. Seed-borne infection of *Trichoconis padwickii* in rice, distribution, and damage to seeds and seedlings. **International Seed Testing Association**. v.37, p.803-810, 1972.

MAGUIRE, J. D. Speeds of germination-aid selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**. v.2, p.176-7, 1962.

MAHARACHCHIKUMBURA, S.S.N, Hyde, K.D, GROENEWALD, J.Z.; Xu, J.; CROUS, P.W. Pestalotiopsis revisited. **Studies in Mycology**, v.79, p.121–186, 2014.

MANANDHAR, J. B. Isolation of *Microdochium oryzae* and *Pinatubo oryzae* from rice seeds and their survival on stored seeds. **European Journal of Plant Pathology**. v.105, p.139- 145, 1999.

MATHENY, P. B. Improving phylogenetic inference of mushrooms with RPB1 and RPB2 nucleotide sequences (Inocybe; Agaricales). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, San Diego, v. 35, n. 1, p. 1-20, 2005.

MATSUO, M. Origin and differentiation of cultivated rice. In: MATSUO, T.; FUSUHARA, Y.; KIKUCHI, F.; YAMAGUCHI, H. (Eds.). The Science of the rice Plant,

Volume Three, Genetics, Tokyo: **Food and Agriculture Politic Research Center**, v3, p.69-88, 1997.

MAUDE, R. B. Seedborne diseases and their control: principle and practice. **CAB International**: Wallingford, UK p.280, 1996.

MENTEN, J.O.M.; MORAES, M.H.D. Tratamento de sementes: histórico, tipos, características e benefícios. **Informativo ABRATES**, v.20, n.3, p.52-71, 2010. <http://www.abrates.org.br/images/stories/informativos/v20n3/minicurso03.pdf>.

MEW, T.W. & GONZALES, P. **A handbook of rice seedborne fungi**. Los Baños, (Philippines): International Rice Research Institute, and Enfield, N.H. (USA): Science Publishers, Inc. 2002, 83p.

MIA, M.A.T.; SAFEEULLA, K.M. Leaf scald of rice in Karnataka, India. **International Rice Research Notes**, v.9, p.19-20, 1984.

MIA, M.A.T; MATHUR, S.B; NEERGAARD, P. *Gerlachia oryzae* in rice seed. **Transations of the British Mycological Society**. v.84, p.337-338, 1985.

MIA, M.A.T; SAFEEULLA, K; MAND MIAH, S.A. Studies on survival of rice leaf scald fungus, *Gerlachia oryzae*. **Bangladesh Journal of Botany**. v.16, p.1-7, 1987.

MIA, M.A.T.; SAFFEULIA, K.M.; SHETTY, H.S. Seed-borne nature of *Gerlachia oryzae*, the incitant of leaf scald of rice in Karnataka. **Indian Phytopathology**, v.39, p.92-93, 1986.

MICHELMORE, R.W.; PARAN, I.; KESSELI, R.V. Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: A rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 88, p.9828-9832, 1991.

MISRA, J.K.; MERCA, S. D.; MEW, T. W. Fungi. In: MEW, T. W.; MISRA, J. K. (Eds). **A Manual of rice Seed Health Testing**. IRRI (International Rice Research Institute), Manila, Phillippines, p.25-28, 1994.

MIURA, L. **Doenças**. In: Epagri Arroz irrigado: Sistema pré-germinado. Florianópolis, Epagri/ GMC, 2002, 203-227p.

MOURA, A.B.; LUDWIG, J; SANTOS, A.G.; SCHAFER, J.T.; SOARES, V.N.; CORRÊA B.O.; Biocontrol and seed transmission of *Bipolaris oryzae* and *Gerlachia oryzae* to rice seedlings. **Journal of Seed Science**, v.36, p.407-412, 2014.

NETTO, D.A.M.; BORBA, C.S.; OLIVEIRA, A.C.; AZEVEDO, J.T.; ANDRADE, R.V.; ANDREOLI, C. Qualidade fisiológica de sementes de sorgo após armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, v.19, p.342-348, 1977.

OU, S.H. **Rice diseases**. Surrey: Commonwealth Mycological Institute, 1972. 368p.

OU SH. **Rice diseases**. (Commonwealth Mycological Institute: Kew), 1985. 380 p.

PARKINSON VO, SIVANESAN A, BOOTH C. The perfect state of the rice leaf-scald fungus and the taxonomy of both the perfect and imperfect states. **Transactions of the British Mycological Society** v.76, 59-69, 1981.

PEREIRA, J.A. **Cultura do arroz no Brasil**: subsídios para a sua história. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2002.

PRABHU, A.S; FILIPPI, M.C; SILVA, G.B; LOBO, V.L.S; MORAIS, O.P. An unprecedented outbreak of rice blast on a newly released cultivar BRS Colosso in Brazil. In: WANG GL, VALENT B. **Advances in genetics, genomics and control of rice blast**. Amsterdam: Springer Science 2009. 257-267p.

PRABHU, A.S.; BEBENDO, I.P.; FILIPPI, M.C. **Principais doenças do arroz no Brasil**. 3. ed. Goiânia: EMBRAPACNPAF, 1995. 43 p. (EMBRAPA-CNPAF. Documentos, 2).

PRABHU, A.S.; FILIPPI, M.C.; RIBEIRO, A.S. **Doenças e seu controle**. In: VIEIRA, N. R. A.; SANTOS, A. B.; SANTANA, E. P. A cultura do arroz no Brasil. Goiás: Embrapa – Arroz e Feijão, 1999. 633p.

PRABHU, A. S.; VIEIRA, N. R. de. **Sementes de arroz infectadas por *Drechslera oryzae*: germinação, transmissão e controle**. Embrapa, Goiânia.1989. Boletim de pesquisa. N.7.

REIS, E.M; BLUM, M.M.C; FORCELINI, C.A. Sobrevivência de *Pyricularia oryzae* associado a sementes de trigo. **Summa Phytopathologica**. v.43, p.43-44, 1995.

R CORE TEAM. R: **A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Áustria, 2017.

RIBEIRO, A.S. Tratamento de sementes com fungicidas. **Revista Anual de Patologia de Plantas**. Passo Fundo, v.4, p. 415, 1996.

RIBEIRO, A.S. **Controle integrado das doenças do arroz irrigado**. Pelotas: EMBRAPA CPATB, (Circular Técnica, 3), 1989. 29p.

SAMUELS GJ, HALLETT IC. 1983. *Microdochium stoveri* and *Monographella stoveri*, new combinations for *Fusarium stoveri* and *Micronectriella stoveri*. **Transactions of the British Mycological Society**, v.81, 473-48, 1983.

SANCHEZ, L.M.; ESTRADA, B.A.; NUQUE, F.L. Seed transmission of *Rhynchosporium oryzae*. **International Rice Research Newsletter**, v.4, n.6, p.9-10, 1979.

SEIFERT, K.A, MORGAN-JONES, G, GAMS, W; The Genera of Hyphomycetes. CBS Fungal Biodiversity Series 9: 1–997. 2011. Utrecht, the Netherlands: CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre.

SIGEF. **Sistema de Gestão Fundiária**. Controle da Produção de Sementes e Mudas, 2021. <http://indicadores.agricultura.gov.br/sigefsementes/index.htm>.

SILVA, M. S. B. S. et al. Sanity of rice seed, biocontrol, characterization and transmission of *Curvularia lunata* on rice seed-seedlings. **Revista Ceres**. v. 61, p.511-517, 2014.

SILVA-LOBO, V. L.; FILIPPI, M. C. C. de; PRABHU, A. S. **Manejo de doenças**. In: SANTOS, A. B. dos (Ed.). Arroz. Brasília, DF: Embrapa, 2019. Disponível em: <https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/arroz/arvore/CONT000fuzvmwzq02wyiv80166sqfmvyttys.html>.

SINGH, A.S; SEN GUPTA, P.K. Role of various sources on the perpetuation of the rice leaf scald pathogen, *Rhynchosporium oryzae*. **Indian Phytopathology**, New Delhi, v.39, n.4, p.521-525, 1986.

SINGH, A.S; SEN GUPTA, P.K. Effect of light on growth, sporulation and spore germination of *Rhynchosporium oryzae* the causal organism of rice leaf scald. **Phytopathologia Mediterranea**, v.23, n.1, p.65-66, 1985.

SINGH, A.S.; SEN GUPTA, P.K. Transmission of *Rhynchosporium oryzae* Hashioka and Yokogi by seed. **International Rice Research Notes** v.6, p.11, 1981.

SCHEIDT, B.T.; GARCIA, J; CASA, R.T; COELHO, C.M.M; BOGO, A; BERGHETTI, J. Transmission of *Microdochium albescens* from seeds to seedlings in the pre-germinated cultivation system of irrigated rice. **Ciência Rural**. v.50, e20180898, 2020.

SCHEIDT, B.T.; BERGHETTI, J.; Casa, R.T.; CHUPEL, F.M; RECALCATTI, W.; ROSSAROLA, V. Viability and location of *Microdochium albescens* in irrigated rice seeds produced in pre-germinated cropping system. **Summa Phytopathologica**, v.47, n.1, p.57-59, 2021.

SCHEIDT, B.T.; BERGHETTI, J.; MARTINS, F.C.; CASA, R.T.; RECALCATTI, W.; ROSSAROLA, V.; VIEIRA, J.J.A.L. Fungi on irrigated rice seeds produced in the pre-germinated system in the Alto Vale do Itajaí region, Santa Catarina state, Brazil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.50, n.8, p.e20190903, 2020.

SOAVE, J.; PRABHU, A.S.; RICCI, M.T.T.; BARROS, L.; SOUZA, N.R.G.; CURVO, R.C.V.; FERREIRA, R.P.; SOBRAL, C.A.M. Etiologia de manchas de sementes de cultivares de arroz de sequeiro no Centro Oeste brasileiro. **Summa Phytopathologica**, v.23, p.122-127, 1997.

SOSBAI. Arroz irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil / Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado; XXXII Reunião Técnica da Cultura do Arroz 282 Irrigado. Farroupilha, RS, 2018. 205p. Available from: http://www.sosbai.com.br/docs/Boletim_RT_2018.pdf.

TANAKA, K; ENDO, M; HIRAYAMA, K; OKANE, I.; HOSOYA, T.; SATO, T. Phylogeny of *Discosia* and *Seimatosporium*, and introduction of *Adisco* and *Immersidiscosia* genera nova. **Persoonia**, v.26, p.85-98, 2011.

TAMURA K. Estimation of the number of nucleotide substitutions when there are strong transition-transversion and G + C-content biases. **Molecular Biology and Evolution**, v.9, p.678-687, 1992.

TELLES NETO, F.X.B.; REIS, E.M.; CASA, R.T. Viabilidade de *Fusarium graminearum* em sementes de trigo durante o armazenamento. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.33, n.4, p.414-415, 2007.

THOMAS, M.D. Dry-season survival of *Rhynchosporium oryzae* in rice leaves and stored seeds. **Mycologia**. v.76, p.1111–1113, 1984.

VĚTROVSKÝ, T.; KOLAŘÍK, M.; ŽIFČÁKOVÁ, L.; ZELENKA, T.; BALDRIAN, P. The *rpb2* gene represents a viable alternative molecular marker for the analysis of environmental fungal communities. **Molecular Ecology Resources**, Oxford, v. 16, n. 2, p. 388-401, 2016.

VON ARX, J.A. Notes on *Monographella* and *Microdochium*. **Transactions of the British Mycological Society**, v.83, p.373-374, 1984.

WEBSTER, R.K.; GUNNELL, P.S. **Compendium of rice diseases**. St. Paul: The American Phytopathological Society. 1992. 62p.

WHITE, T.J.; BRUNS, T.; LEE, S.; TAYLOR, J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DA, Sninsky JJ, et al. (eds), **PCR Protocols: a guide to methods and applications**. 1990. 315-322p.

ZUCHI, J.; BEVILAQUA, G. A. P. Qualidade fisiológica de sementes de arroz armazenadas em diferentes embalagens e temperaturas. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 163**. Pelotas, RS 2012. ISSN 1678-2518, dezembro, 2012.