



FIGURE 4 – Absorbance spectrum of the purified phytoalexin.

TABLE 1 – “In vitro” anti-microbial activity of the phytoalexin-like compound extracted from coffee leaves, that had been injected with the incompatible pathogen *Pseudomonas marginalis*, against selected bacteria.

Microorganism	area of inhibition (cm) ²
<i>Clavibacter michiganense</i> subsp. <i>michiganense</i>	2.76
<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>carotovora</i>	2.76
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>arracaciae</i>	2.16
<i>Pseudomonas cepacia</i>	1.38
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i>	1.15
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>passiflorae</i>	1.15
<i>Agrobacterium radiobacter</i> pv. <i>radiobacter</i>	0.75
<i>Agrobacterium radiobacter</i> pv. <i>tumefaciens</i>	0.75
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>garcae</i>	0
<i>Pseudomonas cichorii</i>	0
<i>Pseudomonas marginalis</i>	0

ALTERNARIA PADWICKII E CURVULARIA LUNATA: PATOGENICIDADE E TRANSMISSÃO POR SEMENTES DE ARROZ IRRIGADO

JEFFERSON L. DA S. COSTA

Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão – CNPAF/EMBRAPA, Caixa Postal 179, 74000 - Goiânia, GO.

(Aceito para publicação em 05/04/1991)

RESUMO

COSTA, J.L. DA S. *Alternaria padwickii* e *Curvularia lunata*: patogenicidade e transmissão por sementes de arroz irrigado. *Fitopatol. bras.*, 16:15-18, 1991.

Uma crescente incidência de *Alternaria padwickii* e *Curvularia lunata* tem sido detectada em sementes de arroz irrigado nos Estados de Goiás e Tocantins. Para averiguar a patogenicidade, cultivares de arroz Metica 1 e CICA 8, foram inoculadas, com esses microorganismos, por injeção na bainha e pulverização na panícula. As plantas foram então submetidas a um período de incubação em câmara de nevoeiro por 72 horas, sendo posteriormente mantidas em casa de vegetação.

Após a maturação e colheita foi avaliada a porcentagem de grãos manchados e de fungos recuperados do pericarpo e endosperma. A transmissibilidade dos patógenos por sementes foi comprovada através do reisolamento e determinação do índice de doenças em plântulas oriundas dos testes de germinação convencionais. ‘Metica 1’ mostrou-se mais suscetível a *A. padwickii*, que ‘CICA 8’, mas ambas cultivares foram mais suscetíveis à *A. padwickii* que a *C. lunata*.

Alternaria padwickii and *Curvularia lunata*: pathogenicity and transmission by seeds of irrigated rice.

An increasing incidence of *Alternaria padwickii* and *Curvularia lunata* has been detected on seeds of irrigated at Goiás and Tocantins States. To evaluate pathogenicity, rice cultivars Metica 1 and CICA 8 were inoculated by sheath injection and panicle spraying. Inoculated plants were kept in moist chamber for 72 hs and then transferred to the greenhouse. At harvest percentage of spotted grains and fungi

recovered from pericarp and endosperm were determined. Seed transmission was evaluated by reisolation and determination of disease index on seedlings obtained from the conventional germination tests. 'Metica 1' was more susceptible to *A. padwickii* than 'CICA 8' and both cultivars were more susceptible to *A. padwickii*.

Uma elevada incidência de manchas em grãos de arroz provenientes de lavouras irrigadas, tem sido motivo de preocupação dos produtores dos Estados de Goiás e Tocantins. A doença inicialmente era atribuída apenas ao fungo *Bipolaris oryzae*, entretanto, a partir da safra 1986/87, constatou-se, em muitos lotes, a predominância de *Alternaria padwickii* e diversas espécies de *Curvularia*, principalmente *C. lunata*.

Alternaria padwickii já foi observada em associação com sementes de arroz em diversos países, incluindo o Brasil (Ou 1985, Amaral 1987). Apesar de causar manchas foliares, os danos só se tornam significativos quando ocorre infecção na semente (Ou 1985). Níveis de infecção elevados de até 76% já foram reportados (Padmanabhan 1949, Suryana et al. citado por Ou 1985 e Mathur et al. 1972). Ou (1985) reportou ainda que um alto nível de infecção pode causar apodrecimento das sementes, raízes e coleóptilos; redução na germinação e morte de plântulas.

Quanto à *Curvularia* spp., várias espécies deste fungo já foram encontradas em sementes de arroz, causando descoloração, lesões em plântulas e redução do poder germinativo (Martin 1939, Groves & Skolko 1945, Rao & Salam 1954, Aulakh 1966, Santamaria et al. 1971, Ou 1985, Amaral 1987).

Considerando a crescente incidência desses fungos nas sementes de arroz irrigado averiguou-se sua patogenicidade, transmissibilidade e efeito sobre a germinação das sementes das duas principais variedades cultivadas nos Estados de Goiás e Tocantins.

Isolados de *A. padwickii* e *C. lunata*, obtidos de plantas infectadas foram cultivados por sete dias à 27±3°C, sob fotoperíodo de 12 horas de luz negra/30 w, em placas de Petri contendo batata-sacarose-agar (BSA), para utilização na inoculação de plantas de arroz, na concentração de 4 x 10⁶ esporos/ml, veiculados em solução aquosa de Tween 80 (0,01%). Um dos métodos de inoculação consistiu de injeção com seringa hipodérmica na base da bainha da folha bandeira de plantas no estágio de emborrachamento, até o extravamento da solução na parte superior da mesma. No outro procedeu-se a inoculação de panículas, contendo grãos ainda no estado leitoso, realizando uma aplicação com pulverizador "De Vilbiss", de forma homogênea até que a solução atingisse o "ponto de escorrimento". Nos dois métodos as plantas testemunhas foram inoculadas apenas com a suspensão de Tween 80 (0,01%). As cultivares utilizadas, Metica 1 e CICA 8, foram mantidas em câmara de nevoeiro (U.R. 90%) por 72 horas e em seguida transferidas para a casa de vegetação (U.R. 54%, temp. média 27±3°C), onde permaneceram até a maturação dos grãos. Após a colheita determinou-se a porcentagem de grãos manchados e de fungos recuperados no endosperma e pericarpio das

sementes. A porcentagem de grãos manchados foi determinada com o auxílio de microscópio estereoscópico (aumento 20 x), em amostras de 1000 unidades por tratamento. Posteriormente, 200 destas sementes, visivelmente manchadas tiveram o pericarpio separado do endosperma, foram submetidas a uma esterilização superficial em álcool absoluto por 30 segundos e em seguida em hipoclorito de sódio 1,25% por um minuto. As sementes foram então lavadas em águas estéril e submetidas a testes de sanidade efetuados em caixas plásticas (10 x 10 x 3 cm) contendo batata-sacarose-agar + estreptomicina (BSA + E). Antes de adicionar o meio de cultura as caixas foram imersas em álcool absoluto por 30 minutos e expostas à luz ultravioleta por seis horas. Após incubação das sementes por sete dias sob fotoperíodo de 12 horas de luz negra (30 W) à 27 ± 3°C, determinou-se a presença dos fungos no endosperma e no pericarpio, bem como a relação endosperma/pericarpio (E/P) estabelecida por:

$$\text{Rel. E/P} = \frac{\% \text{ fungos recuperados do endosperma}}{\% \text{ fungos recuperados do pericarpio}}$$

A patogenicidade e a transmissibilidade dos isolados pelas sementes foram avaliadas colocando quatrocentas unidades para germinarem em papel toalha (germ-test), incubadas em germinador por cinco dias, conforme o método de Menezes et al. (1981). O índice de doença (I.D.) foi estabelecido pela fórmula:

$$\text{I.D.} = \frac{(\text{nota}^2 \times \text{número de plântulas ou sementes lesionadas})}{\text{Número total de plântulas ou sementes}}$$

sendo as notas atribuídas em função da escala:

- 0 = plúmula, coleóptilo e raízes bem desenvolvidas e sem lesões;
- 1 = raiz primária e/ou secundária lesionada;
- 2 = plúmula e raízes lesionadas;
- 3 = plântulas anormais ou com raízes e/ou coleóptilos totalmente apodrecidos;
- 4 = ausência de plúmula e raízes; sementes apodrecidas ou firmes.

Oitenta plântulas com sintomas nas raízes ou coleóptilos foram utilizadas para reisolamento dos fungos em BSA + E.

Em todos os ensaios utilizaram-se quatro repetições, sendo os dados analisados pelo teste de Tukey ao nível de 5%. Como controle utilizou-se sementes originárias de plantas inoculadas apenas com suspensão de Tween 80 (0,01%).

Os fungos inoculados foram capazes de provocar lesões de coloração marrom escura à negra, variando de minúsculas pontuações, até a total cobertura dos grãos de arroz. O método de pulverização apresentou-se mais eficiente que o de injeção, e permitiu maior recuperação dos fungos em ambas as cultivares (Tabela 1). Para a análise dos demais parâmetros em estudo, utilizou-se apenas as sementes originadas do tratamento inoculado por pulverização. As sementes originárias do controle (não inoculadas) não apresentaram manchas visíveis, mas nos testes de sanidade apresentaram incidência de *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *Fusarium* spp. no pericarpo. De maneira geral os microrganismos provocaram maior infecção no pericarpo que no endosperma (Tabela 2). A porcentagem de recuperação dos patógenos nos grãos e a relação E/P demonstraram que a cultivar Metica 1 é mais suscetível à *A. padwickii* que CICA 8 e que ambas foram mais suscetíveis à *A. padwickii* que à *C. lunata*. Apesar disso, este último aparentemente teve mais dificuldade em infectar o endosperma a partir do pericarpo em Metica 1 do que em CICA 8.

A infecção provocada pelos patógenos em estudo, afeta efetivamente a qualidade das sementes, o que é evidenciado pelas manchas visíveis no pericarpo, redução na porcentagem de germinação e elevação do índice de doenças (I.D.) quando comparado com sementes não inoculadas (Tabela 3). A cultivar Metica 1 comprovou ser mais suscetível à mancha de grãos causada por *A. padwickii* que CICA 8. Quanto a infecção por *C. lunata*, não houve diferenças estatísticas entre as cultivares nos parâmetros germinação e índice de doenças. Os índices de doença obtidos neste ensaio indicam que ambos patógenos podem ser transmitidos pelas sementes, causando podridões nas raízes ou coleótilos das plântulas. A patogenicidade foi também comprovada pelo reisolamento de fungos, a partir das plântulas lesionadas (Tabela 4).

Os resultados obtidos indicam que *A. padwickii* pode penetrar o endosperma e reduzir a qualidade das sementes de arroz em concordância com Ou (1985). Mathur et al. (1972)

observou que a infecção das sementes pode causar redução na germinação, podridões nas raízes e coleótilos, além de morte de plântulas. Tisdale, citado por Ou (1985), relata que o fungo pode sobreviver no solo e em restos de cultura, mas que a mais importante fonte de inóculo é a semente.

Quanto a *C. lunata*, os dados também confirmam os relatos de Martin (1939), Martin & Altstatt e Chu & Chen, citados por Ou (1985), os quais igualmente obtiveram sementes infectadas através de inoculações por pulverização e injeção, comprovando sua patogenicidade.

Os resultados do presente trabalho indicam que *A. padwickii* e *C. lunata* são patogênicos e podem ser transmitidos por sementes de arroz irrigado, reduzindo sua qualidade. Tais evidências sugerem, que em muitos casos, a mancha de grãos em arroz possui uma etiologia bem mais complexa, não devendo ser atribuída apenas à *Bipolaris oryzae*, mas sim à uma associação de microrganismos, da qual, *A. padwickii* e *C. lunata* podem contribuir. Consequentemente, futuros estudos sobre a determinação de medidas de controle para a mancha de grãos devem considerar a influência que esses fungos podem ter sobre a cultura. Assim, testes rotineiros de sanidade de sementes de arroz não devem também subestimar a importância dos mesmos.

TABELA 1 – Porcentagem de grãos de arroz manchados com *A. padwickii* e *C. lunata*.

Fungos	Cultivares			
	Metica 1		Cica 8	
	I(z)	P	I	P
<i>A. padwickii</i>	35,3	88,7	31,0	62,0
<i>C. lunata</i>	30,3	62,0	23,0	48,0

^zI = injeção, P = pulverização.

TABELA 2 – Recuperação de *A. padwickii* e *C. lunata* em grãos de arroz visivelmente manchados após inoculação por pulverização (X).

Fungo	Cultivares					
	Metica 1			CICA 8		
	Per. (%)	End. (%)	Rel.E/P	Per. (y) (%)	End. (%)	Rel.E/P
<i>A. padwickii</i>	73Aa	30Ba	0,41 a	59Aa	13Ba	0,22 a(z)
<i>C. lunata</i>	67Aa	8Bb	0,12 b	25Ab	5Ba	0,20 a

^xMédia de quatro repetições (50 sementes por repetição).

^yPer = pericarpo; End = Endosperma; Rel. E/P = relação Endosperma/Pericarpo.

^zValores seguidos da mesma letra (maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical) não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

TABELA 3 – Percentagem de germinação (% G) e índice de doenças (I.D.) de sementes de arroz manchadas com *A. padwickii* (A.p.) e *C. lunata* (C.l.).

Cultivares	% G			I.D.		
	A.p.	C.l.	Controle ^(x)	A.p.	C.l.	Controle
Metica 1	43Cb	62Ba	90Aa	0,95Aa	0,38Ba	0,13Ca ^(z)
Cica 8	61Ba	74Aa	86Aa	0,63Ab	0,42Ba	0,17Ca

^xControle: refere-se a sementes obtidas de plantas que não sofreram inoculação.

^zValores seguidos pela mesma letra (maiúsculas na horizontal e minúsculas na vertical) não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

TABELA 4 – Número de plântulas oriundas de sementes de arroz manchadas que permitiram o isolamento de *A. padwickii* e *C. lunata* ^(x).

Fungos	Cultivares			
	Cica 8		Metica 1	
	R	P.A.	R	P.A. ^(z)
<i>C. lunata</i>	0	8	0	19
<i>A. padwickii</i>	33	38	31	39

^xEm 80 plântulas por tratamento.

^zR = raiz; P.A. = parte aérea.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, H.M. do. Testes de sanidade de sementes de arroz. In: SOAVE, J. & WETZEL, M.V.S. (ed.). Patologia de Sementes, Campinas, Fundação Cargill, 1987. p. 357-370.

AULAKH, K.S. Rice, a new host of *Curvularia verruculosa*. Plant Dis. Repr. 50:314-316. 1966.

GROVES, J.W. & SKOLKO, A.J. Notes on seed borne fungi. III. *Curvularia*. Canadian Journal of Research 23:94-104, 1945.

MARTIN, A.L. Possible cause of black kernels in rice. Plant Dis. Repr. 23:247-249. 1939.

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

MENEZES, J.R. de; MOHAN, S.K.; BIANCHINI, A. & SOUZA, G.L. Qualidade sanitária de sementes de feijão *Phaseolus vulgaris* (L.) no Estado do Paraná. Fitopatol. bras. 6:497-508. 1981.

OU, S.H. Rice Diseases. Commonwealth Mycological Institute, UK, 2a. ed., 1985. 380p.

PADMANABHAN, S.Y. Fungi inside the rice kernels. Current Science 14:328-329, 1949.

RAO, P.M. & SALAM, M.A. *Curvularia* species from discoloured grains from Hyderabad – DN. Journal of the Indian Botanical Society 33:843-845, 1954.

SANTAMARIA, P.A.; BENOIT, A. & MATHUR S.B. *Curvularia cymbopogonis*, a hitherto unreported species pathogenic to rice in the Philippines. Plant Dis. Repr. 55:349-350. 1971.

EPIDEMIOLOGIA DO MAL DAS FOLHAS DA SERINGUEIRA. II - REGIÃO DE MANAUS - AM

¹ L. GASPAROTTO, ² L. ZAMBOLIM, ¹ N.T.V. JUNQUEIRA, ² L.A. MAFFIA & ² F.X. RIBEIRO DO VALE

¹ CCAA/EMBRAPA, C.P. 319,69.001 – Manaus – AM; ² Depto de Fitopatologia – UFV. 36.570 – Viçosa – MG.

(Aceito para publicação em 08/01/91)

RESUMO

GASPAROTTO, L.; ZAMBOLIM, L.; JUNQUEIRA, N.T.V.; MAFFIA, L.A. & RIBEIRO DO VALE, F.X. Epidemiologia do mal das folhas da seringueira. II - Região de Manaus - AM. Fitopatol. bras. 16:18-21. 1991.

Acompanhou-se o progresso do mal das folhas em condições de campo, durante um ano, em Manaus-AM. Concomitantemente, registraram-se a umidade relativa do ar, a temperatura, a duração de molhamento foliar e a precipitação pluvial. Ocorreram em todas as noites, longos

períodos com alta umidade relativa e com presença de molhamento foliar. Praticamente não ocorreram períodos com temperatura igual ou inferior a 20°C. Estas condições predominantes, propiciam à região de Manaus clima altamente favorável ao estabelecimento de *Microcyclus ulei*.