

COMPARAÇÃO DE MÉTODOS DE INOCULAÇÃO E AVALIAÇÃO PARA RESISTÊNCIA À QUEIMA DA BAINHA EM ARROZ.

Bárbara Estevam de Melo Martins¹; Valácia Lemes da Silva Lobo²; Orlando Peixoto de Moraes³; Marta Cristina C. de Filippi⁴; Anne Sitarama Prabhu⁵

Palavras-chave: Esclerócio, *Rhizoctonia solani*, *Oryza sativa*, tamanho de lesão

INTRODUÇÃO

A queima da bainha em arroz, causada pelo fungo *Rhizoctonia solani* Kühn [*Thanatephorus cucumeris* (A.B. Frank) Donk], ocorre praticamente em todas as áreas de produção de arroz no mundo (SAVARY et al., 2006). É uma doença economicamente importante, principalmente em sistemas intensivos de produção de arroz, afetando especialmente as cultivares com alto potencial produtivo. A adubação nitrogenada excessiva, as rotações de arroz com soja e o plantio de cultivares altamente suscetíveis predis põem o arroz a altas severidades em diferentes países, inclusive no Brasil (GROTH & NOVICK 1992; PRABHU et al., 2002). Perdas de produção da ordem de 5 a 10% foram estimadas em arroz irrigado tropical na Ásia, 19% e 41% nos EUA, e no Brasil não são conhecidas as rotações de arroz, podendo variar ano a ano e de acordo com a suscetibilidade da cultivar. Os danos causados por esta enfermidade podem ser reduzidos significativamente por meio do manejo integrado com a utilização de práticas culturais mais adequadas, como controle químico, biológico e uso de cultivares resistentes. O melhoramento visando resistência à queima da bainha é dificultado principalmente pela falta de identificação de variedades doadoras. Até o momento, nenhuma variedade de arroz foi identificada como imune à doença, apesar de níveis diferentes de resistência terem sido relatados (GROTH & NOVICK 1992, PRABHU 2002, WEBSTER e GUNELL, 1992).

Para a determinação da variação genética em genótipos de arroz, um dos métodos mais comum é a avaliação de cultivares naturalmente infectadas no campo, método este muito dependente de condições climáticas e dificultado devido a ocorrência simultânea de outras doenças do colmo, por isso, a inoculação e avaliação em casa de vegetação é mais precisa e segura. Diversas técnicas de inoculação são utilizadas como, inserção de palito de dente, disco de micélio ou esclerócios na bainha, inoculação de folha com um disco de micélio, casca e grão de arroz colonizados com o fungo na na base da planta, inoculação de folhas ou colmos destacados e inoculação com seringa (ZOU et al., 2000; EIZENGA et al., 2002; SINGH et al., 2002; PRABHU et al., 2002; PARK et al., 2008). No Brasil, Araujo et al., (2007) mostraram que a inoculação com casca e arroz colonizados foi mais eficiente para detectar diferenças genéticas quanto à resistência no germoplasma e correlacionou significativamente com as avaliações no campo. Os métodos de avaliação mais utilizados são extensão da lesão, incidência e severidade da doença, comprimento da lesão em relação a altura do perfilho, taxa de aumento da doença no colmo e etc. Todos estes métodos, tanto de inoculação quanto de avaliação mostraram resultados variáveis e inconsistentes (SHARMA et al., 1990). Para detectar pequenas diferenças em resistência no germoplasma é importante utilizar uma técnica de inoculação e avaliação mais precisa.

O presente trabalho foi realizado visando comparar os métodos de inoculação por inserção na bainha do palito colonizado com micélio e do esclerócio de *R. Solani*.

¹Graduanda em Ciências Biológicas – Centro Universitário de Goiás Uni ANHANGUERA, Cidade Jardim Goiânia – GO, CEP 74423-115, barbara_estevam@hotmail.com.

²Engenheira agrônoma, Doutora em Fitopatologia, Embrapa Arroz e Feijão, valacia@cnpaf.embrap.br

³ Engenheiro agrônomo, Doutor em Genética e Melhoramento de plantas, Embrapa Arroz e Feijão, peixoto@cnpaf.embrap.br.

⁴ Engenheira agrônoma, PhD em Fitopatologia, Embrapa Arroz e Feijão, cristina@cnpaf.embrap.br.

⁵ Biólogo, PhD em Fitopatologia, Embrapa Arroz e Feijão, prabhu@cnpaf.embrap.br.

MATERIAL E MÉTODOS

O isolado 4F1 de *R. solani*, obtido de lesões nos colmos infectados da cultivar Metica - 1 no Estado de Tocantins, foi utilizado no presente estudo. Quarenta e duas linhagens e cultivares (Tabela 1) foram plantadas em vasos com capacidade para 5 litros de solo adubado com 5 g de fórmula NPK (4-30-16), sendo cinco plantas por genótipo e por vaso, posteriormente foi feito o desbaste, mantendo-se três plantas por vaso.

Para o preparo do inóculo, o fungo foi multiplicado em meio de cultura BDA até a produção abundante de esclerócios. Os palitos de dente esterilizados, de 10 mm de comprimento, foram espalhados em placas de Petri com meio BDA inoculadas com disco de micélio de *R. solani* no centro. As inoculações foram feitas, nas plantas de cada genótipo, após a emissão de folha bandeira, inserindo na bainha da penúltima folha dos três perfílios principais, o palito colonizado com o micélio, ou o esclerócio imaturo. As plantas inoculadas foram mantidas em casa de vegetação, em condições de alta umidade (95-100%) até o desenvolvimento das lesões. As temperaturas noturnas e diurnas variaram de 22 a 32 °C, respectivamente. O delineamento estatístico utilizado foi blocos ao acaso, com três repetições.

As avaliações, em um total de cinco, foram feitas medindo-se o tamanho da lesão em centímetros, no sentido do comprimento, utilizando um paquímetro. A primeira avaliação foi feita no início do aparecimento da lesão no ponto de inoculação, e as demais em intervalos de dois dias. A área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) foi calculada de acordo com Van Eeckhout et al. (1991). Os dados transformados em \log_{10} foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os genótipos apresentaram sintomas, porém o grau de resistência foi variável. As diferenças entre os genótipos em relação AACPD foram significativas tanto para as inoculações com palito quanto com esclerócios (Tabela 1). Foi possível agrupar os 42 genótipos em três grupos distintos no método de inoculação com esclerócio e em cinco grupos no método do palito, indicando diferenças em grau de resistência. Seis genótipos apresentaram os menores valores de AACPD na inoculação com esclerócios e o genótipo BGA 11556 apresentou o maior grau de resistência nos dois métodos de inoculação (Tabela 1). Diferentes fatores da hospedeira podem influenciar o tamanho de lesão, como a maturidade do colmo, o ciclo, tipo de perfilho, além da quantidade de inóculo, sendo difícil obter um tamanho uniforme de lesão. O método de inoculação com casca e grãos de arroz, em casa de vegetação, foi eficiente e correlacionou com a inoculação no campo (ARAUJO et al. 2007), porém, é sujeita à infestação do solo com saprófitas e *Trichoderma* spp. durante o período de incubação. De acordo com Singh et al. (2002) 0,2 mg de inóculo, colocados na bainha com água esterilizada, induz uma lesão discreta e uniforme, independentemente do tipo de inóculo utilizado, se esclerócios maduros ou imaturos, ou micélio. Estes autores recomendaram o uso de esclerócios imaturos para detectar pequenas diferenças entre tamanhos de lesão.

A correlação entre os dois métodos de inoculação, utilizado neste trabalho, foi altamente significativa ($R^2 = 0,72$). Apesar do método do palito ter se mostrado eficiente, às vezes pode ocorrer a queda do palito antes de infectar as plantas, principalmente em condições de campo. Considerando a facilidade de multiplicação, o método de inoculação com esclerócios mostrou-se mais prático, preciso e rápido, e pode ser utilizado também para testar a variabilidade entre isolados. Diante das dificuldades para padronizar a quantidade de inóculo, e as diferenças em tamanho de lesão em diferentes perfílios da mesma planta, o critério de avaliação com base na AACPD permitiu determinar pequenas diferenças em grau de resistência dos genótipos, sendo o mais indicado. Os genótipos que

apresentaram maior grau de resistência serão avaliados posteriormente em experimento delineado no campo.

Tabela 1- Área abaixo da curva do progresso¹ da queima da bainha em genótipos inoculados com palito colonizado e esclerócio de *R. solani*, em casa de vegetação.

Genótipos	Inoculação	
	Esclerócio	Palito
BGA2442	256,70 a	241,05 a
BGA6961	248,42 a	187,30 a
BRA040081	220,91 a	183,00 a
BGA6871	185,42 a	231,35 a
BRA040291	176,83 a	129,25 b
BGA2385	172,63 a	226,24 a
BGA3490	171,73 a	175,25 a
BGA5461	160,59 a	175,91 a
BGA10476	158,31 a	187,81 a
Epagri 109	157,95 a	136,16 b
BGA4551	157,58 a	130,25 b
BRSCIRAD 302	146,22 a	120,66 b
BRA02601	137,04 a	124,73 b
BGA3195	136,07 a	158,17 a
BGA4759	130,30 a	153,07 b
BRS Jaçanã	127,07 a	122,86 b
BGA5465	126,03 a	136,08 b
BGA4480	124,70 a	137,80 b
BRS Sinuelo	122,28 a	121,50 b
BGA5462	117,50 a	148,19 b
BRA02535	117,19 a	192,56 a
BRA051083	102,69 a	120,53 c
BGA10681	100,79 b	103,38 b
BGA3005	92,72 b	106,30 c
BRS Tropical	85,33 b	113,00 c
BGA5156	85,33 b	78,16 b
CNA109000	82,03 b	100,25 c
SCBRS Tio Taka	81,56 b	95,36 c
BGA5287	80,83 b	98,77 c
CNAi 8858	80,42 b	108,69 c
BGA2672	75,18 b	120,69 b
BGA8229	73,11 b	85,83 c
BGA3372	72,92 b	81,07 c
BRA051077	71,75 b	108,25 c
CES06014	67,33 b	55,77 d
BGA6422	64,67 b	113,68 c
BGA1570	58,03 c	88,00 c
BGA5848	54,83 c	73,11 c
BGA10503	51,67 c	84,47 c
BRA051108	51,54 c	56,72 d
CES06030	45,67 c	97,58 c
BGA11556	42,33 c	26,66 e
CV (%)	4,88	6,72

¹ Os dados foram previamente transformados em \log_{10} para a análise de variância. ** Médias seguidas pela mesma letra, na coluna não diferem significativamente (Scott-Knott, 5% de probabilidade).

CONCLUSÃO

Embora os dois métodos de inoculação possam ser utilizados, o método com esclerócio se mostrou mais preciso e prático, e o mesmo pode ser utilizado tanto em casa de vegetação quanto em campo. O genótipo BGA 11556 foi o que apresentou o maior grau de resistência nos dois métodos de inoculação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAUJO, L.G., PRABHU, A. S., SILVA, G.B. Field and greenhouse inoculation methods for assessment of sheath blight resistance in rice. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, v.7, p.1-7, 2007.

EIZENGA, G.C.; LEE, F.N.; RUTGER, J.N. Screening *Oryza* species plants for rice sheath blight resistance. *Plant Disease*, St. Paul, v.86, p. 808-812, 2002.

GROTH, D. E.; NOWICK, E.M. Selection for resistance to rice sheath blight through number of infection cushions and lesion type. *Plant Disease*, St. Paul, v.76, p.721-723, 1992.

PARK, D.S., SAYLER, R.j., HONG, Y.G., NAM, M.H., YANG, Y. A method for inoculation and evaluation of rice sheath blight disease. *Plant Disease*. St. Paul, v.92, p.25-29, 2008.

PRABHU, A .S.;FILIPPI, M.C.;SILVA, G.B.;SANTOS,G.R. Resistência de cultivares de arroz a *Rhizoctonia solani* e *Rhizoctonia oryzae*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*., Brasília, v.37, n.5, p. 589-595, 2002.

SAVARY, S., TENG, P.S., WILLOCQUET. L., NUTTER, F.W. J.R. Quantification and modeling of crop losses: a review of purposes. *Annu Rev Phytopathol*, v.44 p.89–112, 2006.

SHARMA, N.R.; TENG, P.S.; OLIVARES, F.M. Effect of inoculum source on sheath blight development. *International Rice Research News Letter*, Los Baños, v.15, p.20-21, 1990.

SINGH,A.; ROHILLA,R.; SINGH,U.S.; SAVARY,S.; WILLOCQUET,L.; DUVEILLER, E. An Improved inoculation technique for sheath blight of rice caused by *Rhizoctonia solani*. *Canadian Journal of Plant Pathology*. v.24, p. 65-68, 2002.

VAN EECKHOUT, E.; RUSH, M.C.; BLACKWELL, M. Effect of rate and timing of fungicide application on incidence and severity of sheath blight and grain yield of rice. *Plant Disease*, St. Paul, v.75 p.1254-126, 1991.

WEBSTER, R.K.; GUNELL, P.S. **Compendium of rice diseases**. St. Paul: APS Press, 62p, 1992.

ZOU, J.H., PAN, X.B., CHEN, Z.X., XU, J.Y., LU, J.F., ZHAI, W.X., ZHU, L.H. Mapping quantitative trait loci controlling sheath blight resistance in two rice cultivars (*Oryza sativa* L.). *Theoretical Applied Genetics*, v. 101, p.569-573, 2000.