

Identificar os padrões de virulência de isolados de *Pyricularia oryzae* no hospedeiro de trigo

Josiane Walleria Rodrigues^{1*} (IC); Juliana Teodora de Assis Reges² (PQ).

¹ Discente do curso de Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Goiás - Câmpus de Jataí (GO). ² Docente da Universidade Estadual de Goiás - Câmpus de Jataí (GO). Autor Para Correspondência: jwr.jwalleria@gmail.com.

Resumo: Os primeiros surtos da brusone do trigo no Brasil, com prejuízos significativos à produção, ocorrem no ano de 1986, nas regiões Norte e Oeste do Paraná (PR), assim como Noroeste de São Paulo e Sul do Mato Grosso do Sul. No ano de 1987, a doença atingiu proporções epidêmicas, e muitas lavouras apresentaram desde perdas parciais até perdas totais de produtividade. A Espécies de fungos do gênero *Pyricularia* estão associadas com a doença brusone em plantas da família Poaceae. *Pyricularia oryzae* é a espécie de maior incidência e distribuição mundial, causando perdas em culturas de importância econômica como arroz, aveia, centeio, cevada, trigo e triticale. Dessa forma, este estudo teve como objetivo caracterizar o espectro de patogenicidade de *P.oryzae* do trigo e plantas invasoras no hospedeiro de trigo. A pesquisa foi conduzida no Laboratório de microbiologia e na casa-de-vegetação na Universidade Estadual de Goiás, no Campus de Jataí. Para o estudo comparativo da caracterização fenotípica de isolados de *Pyricularia oryzae*, foram utilizados 15 isolados provenientes de folhas de plantas invasoras ou espigas de trigo e dois isolados de arroz. De acordo com os resultados, conclui-se que os isolados de *Pyricularia oryzae* testados, foram patogênica à trigo, com exceção aos isolados de arroz. Os isolados 16.0.003j, 16.0.005j, 16.1.001j, 16.1.001j, 16.1. 004j e 16.1.006j foram os mais agressivo ao hospedeiro de trigo.

Palavras-chave: Brusone. Patogenicidade. Inoculação. Agressividade.

Introdução

Nesta proposta de pesquisa estudamos o fungo Ascomiceto *Pyricularia oryzae*, que tem distribuição mundial como patógeno do arroz (PRABHU et al., 2003) mas que, no último século, emergiu como patógeno importante adaptado ao trigo no sul do Brasil (IGARASHI et al., 1986) e já se espalhou para outros países que cultivam trigo na América do Sul, como Bolívia e Paraguai (DUVEILLER et al., 2010). Este é um patógeno extremamente importante que causa perdas elevadas à produção de culturas agrícolas de importância mundial (OU,1985; GOULART e PAIVA, 2000; PRABHU et al., 2003). O patógeno da brusone do trigo está

catalogado como um sério patógeno quarentenário que ameaça a agricultura Americana (KOHLI et al., 2010).

O fungo *Pyricularia oryzae* é parte de um complexo de espécies composto por populações que apresentam variação patogênica singular à espécies hospedeiras da família Poaceae, incluindo arroz, trigo, aveia, cevada e milho, bem como outras gramíneas (MURAKAMI et al., 2003; COUCH et al., 2005; REGES et al., 2016). Dentro desse complexo de espécies, isolados do fungo que infectam *Eleusine*, *Panicum*, *Oryza*, *Setaria* e *Triticum* formam um grupo estreitamente relacionado, parcialmente inter-fértil, o grupo *Oryza*. Com base na especificidade do hospedeiro, capacidade de acasalamento e relação filogenética, os isolados de *P. oryzae* são classificados em vários subgrupos de gama de hospedeiros restrita; para citar alguns exemplos: subgrupo *Oryza*, patogênico em arroz (*Oryza sativa*); subgrupo *Setaria*, patogênico em painço (*Setaria italica*); subgrupo *Triticum*, patogênico em trigo (*Triticum aestivum*); e subgrupo *Avena*, patogênico em aveia (*Avena sativa*) (TOSA e CHUMA, 2014; KLAUBAU et al., 2014; REGES, 2016; REGES et al., 2016).

A brusone na cultura do trigo tornou-se uma doença importante, ocasionando perdas entre 40 e 100% na cultura (GOULART e PAIVA 2000; TORRES et al., 2009). As lesões da brusone do trigo na folha, têm forma elíptica e alongada, acompanhando as nervuras, com dimensões de 1-2 por 21-25 mm, com coloração central que varia de branco a castanho claro e as bordas castanho-avermelhado. O tamanho e a intensidade de descoloração da lesão variam com a idade da planta, Em plantas jovens de trigo o sintomas foliares da brusone são semelhantes aos observados em outros hospedeiros, como em cevada e braquiária (REGES, 2016). Devido à falta de cultivares com altos níveis de resistência genética e de controle químico eficaz para o manejo da brusone, o patógeno tornou-se amplamente distribuído em todas as áreas de cultivo de trigo no Brasil (CASTROAGUDÍN et al. 2015; MACIEL et al., 2014). Diante dessa problemática o principal objetivo deste trabalho foi caracterizar o espectro de patogenicidade de *P.oryzae* do trigo e plantas invasoras no hospedeiro de trigo.

Origem dos isolados

Para o estudo comparativo da caracterização fenotípica de isolados de *Pyricularia oryzae*, foram utilizados 15 isolados provenientes de folhas de plantas invasoras ou espigas de trigo e dois isolados de arroz utilizado como controle, de acordo com a Tabela 1.

Tabela 1. Isolados trabalhados de *Pyricularia oryzae* obtidos de amostras de trigo e gramíneas invasoras de áreas de trigo em 2016.

Isolado	Hospedeiro
16.0.001j	Capim-braquiária (<i>Urochloa</i> spp.)
16.0.002j	Capim-colonião (<i>Panicum maximum</i>)
16.0.003j	Capim-braquiária (<i>Urochloa</i> spp.)
16.0.004j	Capim-braquiária (<i>Urochloa</i> spp.)
16.0.005j	Capim-braquiária (<i>Urochloa</i> spp.)
16.0.006j	Capim-braquiária (<i>Urochloa</i> spp.)
16.0.007j	Capim-carrapixo (<i>Cenchrus echinatus</i>)
16.1.001j	<i>Triticum aestivum</i>
16.1.002j	<i>Triticum aestivum</i>
16.1.003j	<i>Triticum aestivum</i>
16.1.004i	<i>Triticum aestivum</i>
16.1.005j	<i>Triticum aestivum</i>
16.1.006j	<i>Triticum aestivum</i>
16.1.007j	<i>Triticum aestivum</i>
16.1.008j	<i>Triticum aestivum</i>
001	<i>Oryza sativa</i>
002	<i>Oryza sativa</i>

Fonte: Elaborado pelos autores

Preparação do inóculo

Os isolados de *Pyricularia oryzae* foram cultivados em placas de Petri contendo meio aveia-água e mantidos sob fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 25 °C, durante cinco dias. Feito isso, discos de 5 mm contendo micélio e conídios de *Pyricularia* spp. foram transferidos para outras 10 placas contendo meio de aveia, para produção e obtenção de esporos. As colônias de fungos foram mantidas por 15 dias sob as mesmas condições de cultivo (MACIEL et al., 2014; REGES et al., 2016; REGES, 2016).

Semeadura

A semeadura do hospedeiro de trigo (*T. aestivum*) cv. *BRS 264*, foram realizadas nos dias 6 de setembro de 2016 e 27 de maio de 2017, cerca de 8 a 10 sementes foram semeadas em saquinhos plásticos de 300 mL, contendo substrato para plantas Tropstrato HT hortaliças (Vida Verde). Antes da inoculação, as plantas foram mantidas em telado à temperatura de 25 a 30 °C e regime de 12 horas de luz, e foram irrigadas diariamente. Uma adubação (2,6 g/vaso) com o formulado N-P-K (10-10-10) foi realizada 10 dias após as semeaduras.

Três semanas após a emergência quando as plantas testadas estavam no estágio fenológico de quatro folhas, o desbaste foi realizado deixando apenas seis plantas por saquinho. Os saquinhos foram distribuídos aleatoriamente dentro da casa de vegetação seguindo o delineamento casualizado, com 1 cultivares, 5 repetições de cada isolado. Cada parcela experimental consistiu de um vaso contendo seis plantas, totalizando 30 plantas.

Inoculação de *Pyricularia* spp. em trigo

A inoculação foi realizada com o auxílio de bomba spray de ar sob pressão a suspensão de conídios foi pulverizada sobre cada uma das plantas até o total molhamento da superfície foliar, adaxial e abaxial. Após a inoculação, as plantas foram incubadas por 24 horas no escuro em câmara tipo Fitotron, à temperatura de 24 °C sob nebulização. Após, as parcelas experimentais foram transferidas para casa de vegetação e com 12 horas de luz solar. Os vasos foram irrigados diariamente.

Avaliação

As plantas foram avaliadas sete dias após a inoculação. Cinco folhas com sintomas de brusone por vaso foram fotografadas usando uma câmera digital marca Samsung. Os níveis de agressividade dos isolados foram determinados com base na porcentagem de área foliar infectada das plantas com sintomas de brusone. A área foliar infectada foi determinada com o uso do software para análise de imagens digitais Assess Image Analysis Software for Plant Disease Quantification version 2.0 da APS – American Phytopathological Society (Lamari, Department of Plant Science, University of Manitoba, Winnipeg, Manitoba, Canadá). A análise de variância foi realizada usando o pacote de software estatístico ASSISTAT 7.7 (SILVA; AZEVEDO,

2016). A análise da variância e as médias dos isolados dos hospedeiros foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Diferenças significativas foram detectadas entre a espécie de *Pyricularia oryzae* quanto à severidade de brusone em trigo (Tabela 2). Todos os isolados de *Pyricularia oryzae* testadas foram patogênicas à trigo, com exceção aos isolados de arroz (001; 002). Com relação aos isolados de *P. oryzae* provenientes de plantas invasoras os isolados 16.0.003j e 16.0.005j foram o mais agressivo às plantas jovens (Figura 1), com uma área foliar média infectada de 47,35 e 46,45% respectivamente. Já os grupos de isolados de *P. oryzae* de plantas de trigo, os mais agressivos foram 16.1.001j, 16.1.004j e 16.1.006j proporcionando médias de severidade de 49,66; 48,28 e 46,78% de área foliar infectada, respectivamente. Os isolados 001 e 002 que foi isolado da espiga de arroz não foi patogênica ao trigo cv. BRS 264. O resultado já era esperado pois, o trigo tem a presença funcional do gene de avirulência Avr1-CO39 no fungo *P. oryzae* potencialmente impede a infecção de arroz, pois este carrega o gene de resistência Pi-CO39(t) (COUCH et al., 2005).

Tabela 2. Médias de agressividade dos patógenos de *Pyricularia oryzae* em hospedeiro de arroz.

Isolados	Trigo
16.0.001j	30,84 b
16.0.002j	18,93 cd
16.0.003j	47,35 a
16.0.004j	32,87 b
16.0.005j	46,45 a
16.0.006j	13,32 d
16.0.007j	18,94 cd
16.1.001j	49,66 a
16.1.002j	27,19 bc
16.1.003j	19,29 cd
16.1.004j	48,28 a
16.1.005j	31,89 b
16.1.006j	46,78 a
16.1.007j	18,86 cd
16.1.008j	31,78 b
001	0,13 e

002	0,36 e
F	73,43**
CV (%)	14,16

Médias na coluna seguidas pela mesma letra não diferem entre si, a 1% de probabilidade pelo teste de Tukey. Fonte: Elaborado pelos autores.

Figura 1: Lesões foliares em trigo cv. BRS 264, inoculadas com *Pyricularia oryzae*



Fonte: Elaboração dos autores

Considerações Finais

De acordo com os resultados, conclui-se que os isolados de *Pyricularia oryzae* testados, foram patogênicas à trigo, com exceção aos isolados de arroz.

Agradecimentos

À Universidade Estadual Goiás (UEG) pela aprovação do projeto e a concessão da Bolsa Científica Voluntária para a primeira autora.

A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária de Trigo (EMBRAPA) pela concessão da sementes que foram utilizadas no experimento.

Referências

CASTROAGUDÍN, V. L.; CERESINI, P. C.; DE OLIVEIRA, S. C.; REGES, J. T. A.; MACIEL, J. L. N.; BONATO, A. L. V.; DORIGAN, A. F.; MCDONALD, B. A. Resistance to QoI fungicides is widespread in Brazilian populations of the wheat blast pathogen *Magnaporthe oryzae*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 105, n. 3, p. 284-294, 2014.

COUCH, B. C.; FUDAL, I.; LEBRUN, M.-H.; THARREAU, D.; VALENT, B.; VAN KIM, P.; NOTTÉGHEN, J.-L.; KOHN, L. M. Origins of host-specific populations of the blast pathogen *Magnaporthe oryzae* in crop domestication with subsequent expansion of pandemic clones on rice and weeds of rice. **Genetics**, Austin, v. 170, n. 2, p. 613-630, 2005.

DUVEILLER, E.; HODSON, D.; TIEDMANN, A. Wheat blast caused by *Magnaporthe grisea*: a reality and new challenge for wheat research. In: **International wheat Conference**, 8., 2010. St. Petersburg. Conference.. St. Petersburg: Vavilov Research Institute of Plant Industry, 2010. p.247-248.

GOULART, A.C.P.; PAIVA, F. A. Perdas no rendimento de grãos de trigo causadas por *Pyricularia grisea*, nos anos de 1991 e 1992, no Mato Grosso do Sul. **Summa Phytopathologica**, v. 26, p. 279-282, 2000.

IGARASHI, S.; UTIAMADA, C. M.; IGARASHI, L. C.; KAZUMA, A. H.; LOPES, R. S. *Pyricularia* em trigo. 1. Ocorrência de *Pyricularia* sp. no estado do Paraná. **Fitopatologia brasileira**, Brasília, v. 11, p. 351-352 1986.

KLAUBAU, S. et al. Resolving the polyphyletic nature of *Pyricularia* (*Pyriculariaceae*). **Studies in mycology**, Baarn, v. 79, p. 85-120, 2014.

KOHLI, M. M. et al. *Pyricularia* blast – a threat to wheat cultivation. In: **INTERNATIONAL WHEAT CONFERENCE**, 8., 2010. St. Petersburg. St. Petersburg: Vavilov Research Institute of Plant Industry. p.273.

MACIEL, J. L. N.; CERESINI, P. C.; CASTROAGUDIN, V. L.; ZALA, M.; KEMA, G. H. J.; MCDONALD, B. A. Population structure and pathotype diversity of the wheat blast pathogen *Magnaporthe oryzae* 25 years after its emergence in Brazil. **Phytopathology**, St. Paul, v. 104, n. 1, p. 95-107, 2014.

MURAKAMI, J.; TOMITA, R.; KATAOKA, T.; NAKAYASHIKI, H.; TOSA, Y.; MAYAMA, S. Analysis of host species specificity of *Magnaporthe grisea* toward foxtail millet using a genetic cross between isolates from wheat and foxtail millet. **Phytopathology**, St. Paul, v. 93, n.10, p. 42-45, 2003.

PRABHU, A. S. et al. Estimativa de danos causados pela brusone na produtividade de arroz de terras altas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 38, p. 1045-1051, 2003.

OU, S. H. Blast. In: OU, S. H. (Ed.). **Rice diseases**. 2. Wallingford: CAB International, 1985. p.109-201.

REGES, J. T. A.; NEGRISOLI, M. M.; DORIGAN, A. F.; CASTROAGUDÍN, V. L.; MACIEL, J. L. N.; CERESINI, P. C. *Pyricularia pennisetigena* and *P. zingibericola* from invasive grasses infect signal grass, barley and wheat. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 46, n. 2, p. 206-214, 2016.

REGES, J. T.A. **Biologia e estrutura genética de populações do patógeno da brusone do trigo no Centro-Sul do Brasil**. 2016. 76f. Tese (Doutorado em Agronomia: Sistema de Produção) - Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista - UNESP, Ilha Solteira, 2016.

SILVA, F.A.S.; AZEVEDO, C.A.V. The Assistat Software Version 7.7 and its use in the analysis of experimental Afr. **J. Agric. Res.** Vol. 11, n. 39, p. 3733-3740, 2016.

TORRES, G. A. M. et al. **Doenças da espiga causam perda de rendimento em trigo nos estados do Paraná, São Paulo e Mato Grosso do Sul, em 2009**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2009. 10 p. (Embrapa Trigo. Comunicado técnico online,

255.) Disponível em: < http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/co/p_co255.htm > Acesso em: 19 jun. 2017).

TOSA, Y.; CHUMA, I. Classification and parasitic specialization of blast fungi. **Journal of general plant pathology**, Tokyo, v. 80, n. 3, p. 202-209, 2014.