

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

Simone Duarte Ramalho da Silva^{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 - Campus de Jataí (GO). Autor Para Correspondência: ramalho.selva@gmail.com

Resumo: O gênero *Pyricularia* é composto por diversas espécies de fungos fitopatogênicos que estão associados com a brusone em mais de 50 espécies de plantas Poáceas. Entre as espécies desse gênero, *Pyricularia oryzae* é possivelmente o patógeno mais importante em função de sua distribuição cosmopolita em plantas poáceas. A brusone ocasionada por *P. oryzae* é responsável por perdas severas, sob condições predisponentes, em culturas de importância econômica como arroz, aveia, capim-braquiária, centeio, cevada e trigo. Dessa forma, este estudo teve como objetivo caracterizar o espectro de patogenicidade de *P. oryzae* do trigo e plantas invasoras no hospedeiro de cevada. 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 patogênicos à cevada, com diferenças na agressividade. Os isolados 16.0.001j, 16.0.005j, 16.1.002j, 16.1.003j e 16.1.008j foram os mais agressivos ao hospedeiro de cevada.

Palavras-chave: Brusone. Patogenicidade. Inoculação. *Hordeum vulgare*.

Introdução

O fungo *Pyricularia* é um gênero complexo de fitopatógenos que causam doenças em mais de 50 espécies de plantas Poáceas que incluem culturas de grande importância econômica como o arroz, a aveia, a cevada, o trigo, e o milho (COUCH et al., 2005). 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

(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). Devido à falta de cultivares resistentes e de fungicidas eficazes para o manejo da doença, o patógeno tornou-se amplamente distribuído

Além da falta de informações sobre genótipos resistentes à brusone, desconhece-se também o estágio de desenvolvimento da planta em que a resistência se expressa. Nesse sentido, resultados obtidos para a cultura do arroz ao longo dos vários anos de pesquisa mostram que a relação entre reação de resistência à brusone em planta jovem e em planta adulta é discrepante. De acordo com Prabhu et al. (2003) a expressão da resistência nas panículas é menos completa e mais complexa que em folhas. Nas folhas e nas panículas a resistência é controlada por diferentes genes herdados independentemente. Entretanto, Arruda et al. (2005) evidenciaram correlação positiva entre suscetibilidade de folhas no estágio vegetativo e de espigas.

As plantas de cevada (*Hordeum vulgare* L.) assumem um importante papel na disseminação de inúmeros patógenos causadores de doenças, visto que, do ponto de vista de sanidade, além de sofrerem ataque de inúmeros agentes fitopatogênicos, as sementes podem servir de fonte de inóculo para cultivos posteriores, como também se constituir em veículo para introdução de patógenos em áreas livres de determinadas doenças. (BARBA et al., 2002).

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 (*Oryzae sativa*); subgrupo Setaria, patogênico em painço (*Setaria italica*); subgrupo Triticum, patogênico em trigo (*Triticum aestivum*); e subgrupo Avena, patogênico em aveia (*Avena sativa*) (TOSA; CHUMA, 2014; REGES et al., 2016). Dessa forma, este trabalho teve como objetivo caracterizar o espectro de patogenicidade de *P.oryzae* do trigo e plantas invasoras no hospedeiro de cevada.

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 pelo autor

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 cevada (*Hordeum vulgare*) cv. BRS Korbel, 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 cevada

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

Todos os isolados de *Pyricularia oryzae* testados foram patogênicas à cevada cv. BRS Korbel (Tabela 2), mas os isolados 16.0.001j, 16.0.005j, 16.1.002j, 16.1.003j e 16.1.008j foram os mais agressivos (médias de 45,88; 48,55; 54,76; 55,21 e 48,11% de área foliar infectada respectivamente). De fato, inúmeras cultivares de cevada têm sido consideradas suscetíveis aos patógenos do gênero *Pyricularia*, especialmente da espécie de *P. oryzae* (MARANGONI et al. 2013; REGES et al., 2016). Há, entretanto, uma variação quanto à resistência à brusone e genótipos com níveis elevados de resistência a *P. oryzae* (MARANGONI et al. 2013; REGES et al., 2016).

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

Tratamentos	Hospedeiro
16.0.001j	45,88 a
16.0.002j	27,48 bc
16.0.003j	26,34 bc
16.0.004j	35,49 b
16.0.005j	48,55 a
16.0.006j	21,06 cd
16.0.007j	19,53 cd
16.1.001j	18,79 cd
16.1.002j	54,76 a
16.1.003j	55,21 a
16.1.004i	11,67 d
16.1.005j	12,12 d
16.1.006j	35,08 b
16.1.007j	35,67 b
16.1.008j	48,11 a
001	33,89 b
002	31,67 b
F	42,74**
CV(%)	15,67

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

Principais sintomas de brusone em cevada: os sintomas em folhas de cevada são descritos como lesões elípticas com centro cor de cinza e margem cor de marrom, semelhantes aos produzidos em trigo.

Em folhas, as lesões têm forma elíptica e alongada, acompanhando as nervuras, com centro cor de cinza e margem cor de marrom (Figura 1), semelhantes aos produzidos em trigo. O tamanho e a intensidade de descoloração da lesão variam com a idade da planta (LIMA,2004).

Figura 1: lesões foliares em cevada cv. BRS Korbel 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 cevada, com diferenças na agressividade.

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

ARRUDA M.A.; BUENO C.R.N.C.; ZAMPROGNO K.C.; LAVORENTI N.A.; URASHIMA A.S. Reação do trigo a *Magnaporthe grisea* nos diferentes estádios de desenvolvimento. **Fitopatologia Brasileira**, v.30, p.121-126, 2005.

BARBA J.T.; REIS E.M.; FORCELINI A.C. Comparação de métodos para detecção de *Bipolaris sorokiniana* em sementes de cevada. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, p.389-394, 2002.

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.

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.

LIMA, M. I. P. M. Giberela ou brusone? Orientações para a identificação correta dessas enfermidades em trigo e em cevada. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2004. 56 p. html. (Embrapa Trigo. Documentos Online; 40). Disponível em: http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do40.htm. Acessado em 01 de junho de 2017

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.

MARANGONI, M. S.; NUNES, M.P.; FONSECA Jr, N.; MEHTA, Y. R. Pyricularia blast on white oats: a new threat to wheat cultivation. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 38, p. 198-202, 2013.

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.

PRABHU, A. S.; ARAUJO, L. G. D.; FAUSTINA, C.; BERNI, R. F. Estimativa de danos causados pela brusone na produtividade de arroz de terras altas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 38, n. 9, p. 1045-1051, 2003.

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.

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. DOI: 10.5897/AJAR2016.11522.

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.