

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

Michelle Nogueira de Jesus^{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: michellenoguei18@gmail.com

Resumo: 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 arroz. 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 arroz, com diferenças na agressividade. Os isolados 16.0.001j, 16.0.003j, 16.0.004j, 001, 002 foram os mais agressivos ao hospedeiro do arroz.

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

Introdução

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 (KOHLE et al., 2010). Devido à falta de cultivares resistentes e de fungicidas eficazes para o manejo da

doença, o patógeno tornou-se amplamente distribuído em todas as áreas de cultivo de trigo no Brasil (MACIEL et al., 2013; CASTROAGUDÍN et al., 2014).

Há ainda evidências, baseadas em dados de patogenicidade e de isolamento reprodutivo, para a existência de dois grupos distintos de *P. oryzae* causando brusone em trigo no Brasil: aquele que infecta o arroz e o que não infecta. Urashima et al.(1993) relataram que nove entre 16 isolados derivados de arroz foram capazes de infectar pelo menos uma variedade de trigo. Em contrapartida, as linhagens de *P. oryzae* derivadas de trigo não produziram quaisquer sintomas em variedades diferenciais japonesas de arroz e em cultivares brasileiras de arroz de terras baixas e de terras altas.

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; 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 arroz.

Material e Métodos

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 arroz (*Oryza sativa*) cv IRGA 409, 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 arroz

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 no hospedeiro de arroz (Tabela 2). Os isolados 16.0.001j, 16.0.003j, 16.0.004j, 001 e 002 foram os mais agressivos ao hospedeiro do arroz, proporcionando, em médias 45,85; 44,34; 45,37; 43,89 e 42,67% respectivamente de área foliar infectada. Podem observar que os isolados de trigo não infectaram o hospedeiro de arroz, isto era previsto pois o Avr1-CO39 é um gene de avirulência do fungo da brusone que corresponde ao gene de resistência Pi CO39(t) em cultivares de arroz (COUCH et al., 2005). De acordo com os autores Maciel et al. (2014) o gene de avirulência Avr1-CO39 foi detectado em 98% das amostras de trigo (com as únicas exceções em SP). Isto foi confirmado em teste de patogenicidade cruzada, aonde todos os isolados obtidos de trigo foram avirulentos na cultivar de arroz Marateli.

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

Tratamentos	Hospedeiro
16.0.001j	45,85 a
16.0.002j	27,48 b
16.0.003j	44,34 a
16.0.004j	45,35 a
16.0.005j	28,05 b
16.0.006j	21,06 c
16.0.007j	19,53 c
16.1.001j	1,57 d
16.1.002j	0,57 d
16.1.003j	0,21 d
16.1.004i	0,28 d
16.1.005j	0,12 d
16.1.006j	0,08 d
16.1.007j	0,22 d
16.1.008j	0,11 d
001	43,89 a
002	42,67 a
F	561,38**
CV(%)	8,67

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

A brusone é considerada a doença mais importante do arroz. Em folhas, as lesões têm forma elíptica e alongada, acompanhando as nervuras, com dimensões de 1-2 por 0,3-0,5 cm, com coloração central que varia de branco a castanho claro e as bordas castanho-avermelhado e às vezes circundadas por um halo amarelado (Figura 1). O tamanho e a intensidade de descoloração da lesão variam com a idade da planta. As principais perdas causadas por brusone nas folhas são indiretas e afetam a fotossíntese e a respiração (BASTIAANS et al., 1994).

Figura 1: lesões foliares em arroz cv. IRGA 409 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 arroz, 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.

Ao IRGA (Instituto Rio Grandense do Arroz) pela concessão das sementes que foram utilizadas no experimento.

Referências

BASTIAANS, L.; RABBINGE, R.; ZADOKS, J. C. Understanding and modeling leaf blast effects on crop physiology and yield. In: ZEIGLER, R. S.; LEONG, S. A.; TENG, P. S. (Ed.). **Rice blast disease**. Wallingford: CAB International, 1994. p. 357-380.

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.

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.

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.

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.

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.

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.

URASHIMA, A. S.; IGARASHI, S.; KATO, H. Host range, mating type, and fertility of Pyricularia grisea from wheat in Brazil. **Plant disease**, St. Paul, v. 77, p. 1211-1216, 1993.