





Especificidade da resistência em patossistemas envolvendo *Magnaporthe grisea* e cereais

Maria da Glória Trindade¹, Alfredo do Nascimento Junior², Marcello Marques Honório Siqueira³, Hosana Luz Moreira da Silva⁴, Anne Sitarama Prabhu⁵

O triticale (X. triticosecale Wittmack) é um híbrido artificial, desenvolvido na Europa, ao redor do ano 1800, que combina a potencialidade do rendimento e qualidade do trigo (Triticum aestivum L.) com a resistência de centeio (Secale cereale L.). Suas primeiras cultivares comerciais foram liberadas em 1969 e, desde então, têm se destacado e atingido importância econômica em diferentes partes do mundo. Sua produção é destinada tanto para consumo animal, como humano e, entre seus principais produtores, destacam-se Brasil e Africa do Sul. No ano agrícola de 2001, verificou-se em extensas áreas de triticale uma acentuada queda de produtividade, em conseqüência de uma doença até então desconhecida, que ocorreu em proporções epidêmicas. Através de análises laboratoriais e teste de patogenicidade, identificou-se o fungo Pyricularia grisea (Cooke) Sacc. [teleom. Magnaporthe grisea (Hebert) Barr.] como agente causal dessa doenca (Martins et al. 2004). Entretanto, o primeiro relato

da doença atacando triticale no Brasil foi no ano de 1995 no estado do Paraná (Metha & Baier, 1998).

Essa é a mais importante doença da cultura de arroz e também a mais recente detectada em trigo no Brasil, primeiramente identificada em 1985 no Estado do Paraná. Posteriormente, o patógeno disseminou-se para novas áreas, sendo que, atualmente, sua ocorrência foi relatada nos Estados de Mato Grosso, Goiás, São Paulo, Rio Grande do Sul, estando presente nas principais regiões tritícolas do Brasil.

A brusone pode atacar toda parte aérea da planta, porém o sintoma mais característico ocorre nas espigas.

Quando a infecção ocorre na ráquis, a ação do fungo impede a translocação da seiva e a passagem da mesma para a parte superior da espiga, o que provoca o branqueamento total ou parcial acima da lesão (ponto preto e brilhante no local de penetração do fungo), prejudicando o desenvolvimento dos grãos com

¹ Engenheira agrônoma, mestra em Genética e Melhoramento de plantas, Embrapa Trigo – Rodovia BR 285, km 294, Passo Fundo - RS – Brasil, 99001-970, mgloria@cnpaf.embrapa.br

² Engenheiro agrônomo, doutor em Genética e Melhoramento de plantas, Embrapa Trigo – Rodovia BR 285, km 294, Passo Fundo - RS - Brasil , 99001-970, <u>alfredo@cnpt.embrapa.br</u>

³ Biólogo, Universidade Estadual de Goiás Av. Anhanguera, 1420 St. Vila Nova, 74705-010, Goiânia-Goiás, biologomarcello@yahoo.com.br

⁴ Bióloga, Universidade Estadual de Goiás Av. Anhanguera, 1420-St. Vila Nova, 74705-010, Goiânia-Goiás, hosanaluzsilva@yahoo.com.br

⁵ Biólogo, Doutor em Fitopatologia, Embrapa Arroz e Feijão, C.P. 179, 75375-000, Santo Antônio de Goiás, GO, e-mail: prabhu@cnpaf.embrapa.br.

esterilidade e chochamento. Em arroz são conhecidos genes de resistência a esse patógeno. Entretanto, em trigo, a maioria das cultivares existentes atualmente tem se mostrado suscetível a vários isolados do patógeno, sendo observada apenas resistência parcial entre os melhores genótipos.

A resistência vertical ou específica é controlada por genes maiores e não é efetiva contra todos os patótipos do patógeno. Por outro lado, a resistência parcial é caracterizada por uma reação de suscetibilidade, com baixa severidade de doenca e de heranca quantitativa na maioria dos casos (Young, 1996). Na cultura de triticale ainda não é conhecida a reação dos genótipos à infecção com isolados do fungo de outros hospedeiros em testes de inoculação em condições controladas. Assim sendo, esse trabalho objetivou acessar a natureza da reação de genótipos de triticale a isolados de M. grisea coletados de vários hospedeiros na região do cerrado brasileiro com relação à especificidade e identificar o nível de resistência parcial em genótipos de triticale caracterizando os níveis em que se expressa.

Material e métodos

Metodologia para avaliação da resistência parcial em genótipos de triticale

A semeadura dos genótipos foi efetuada em bandejas de plástico (15 x 30 x 10 cm) contendo 3 kg de solo adubado com NPK (5g de 5-30-15 + Zn e 3g de sulfato de amônio), utilizando-se o delineamento experimental Inteiramente ao Acaso com parcelas subdivididas. Nas parcelas foram alocados os isolados num total de 9 (Tabela 1) e nas subparcelas os genótipos, num total de 16 e duas repetições/bandeja. Foram utilizados 14 genótipos de triticale (linhagens TCL 500001, TCL 500002, TCL 500003,

TCL 500004, TCL 500005, TCL 500008, TCL 500009, TCL 500010, TCL 500011, TCL 500012, TCL 500014, TCL 500024, TCL 500030 e TCL 500042), uma testemunha suscetível (Cevada BRS 180), e uma testemunha resistente, (Arroz Cultivar Metica I). As plantas foram inoculadas 25 dias após a emergência, com uma suspensão de esporos contendo 3x10⁵ conídios/ml conforme metodologia descrita por Prabhu et al. (1992). A severidade de brusone nas folhas foi avaliada nove dias após a inoculação utilizando-se uma escala que variou de 0, 25, 50, 75 e 100% de área foliar afetada. De acordo com Prabhu et al. (2002), o número de lesões esporulantes/cm² de folha está altamente correlacionado com severidade de brusone nas folhas baseada na área foliar afetada. Para cada subparcela foi avaliado um total de 10 folhas. Para implementação da análise de variância e respectivos testes de comparação de médias, bem como para o cálculo da resistência parcial, considerou-se um delineamento experimental inteiramente casualizado com parcelas subdivididas, excluindo-se a cultivar de arroz e o isolado de M. grisea oriundo do campim colchão em duas repetições. O valor da severidade em cada repetição representou a média de avaliação de dez folhas.

Os dados de severidade de brusone nas folhas foram submetidos à análise de variância, considerando-se o modelo matemático Y_{ik} = m+ P_i + Ea+ S_k + PS_{ik} + Eb, em que os efeitos P_i , S_k e PS_{ik} foram considerados fixos. Em que: Y_{ijk} é a observação relativa à sub-parcela que recebeu o tratamento i, na parcela j; m é a média geral do experimento; P_i é o efeito do genótipo; i = (1, ..., 14); S_k é o efeito do isolado; k = (1, ..., 9); PS_{ik} é o efeito da interação genótipo x isolado; Ea é o efeito do erro aleatório, normal e

variância d²_A, associado a parcela experimental; Eb é o efeito do erro aleatório geral do experimento, normal e independente, distribuído com média 0 e variância d²_B. As médias de tratamentos foram comparadas entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade utilizandose o software Minitab Release 14 (Minitab, 2003). Utilizou-se para efeito de normalização dos dados a tranformação da variável original para $ArcSen\sqrt{x}$. O índice de resistência parcial (IRP) foi calculado em relação ao genótipo TCL 500042 que apresentou maior média de severidade de brusone nas folhas, superando a testemunha suscetível Cevada BRS 180, conforme descrito em Araújo & Prabhu (2002).

Resultados e Discussão

Os resultados obtidos pela análise de variância indicaram diferencas altamente significativas na severidade de brusone nas folhas para as fontes de variação Isolados, Genótipos e Interação Isolados x Genótipos, conforme indicado na Tabela 2, atestando diferenças na resistência a brusone entre os genótipos de triticale e na agressividade entre os isolados de M. grisea utilizados nesse trabalho. Embora a interação isolados x genótipos tenha sido significativa, a porcentagem de participação na variação total foi pequena (0,081%). Prabhu et al. (2002) também demonstrou pequenas interações entre isolados e genótipos, indicando a natureza raca-específica da resistência. A resistência raça-específica é caracterizada pela presença de interações genéticas entre patógeno e hospedeiro em que a classificação dos genótipos depende do isolado do patógeno utilizado na avaliação da resistência. De acordo com Parlevliet (1989) quando genótipos hospedeiros com resistência quantitativa são testados contra diferentes genótipos do patógeno pequenos efeitos raca-específica podem

ser encontrados. No presente estudo, a maior parte da variação foi explicada por efeitos principais de genótipos e isolados e somente uma pequena variação foi devida à interação. O conjunto de isolados selecionados para esse estudo amostrou isolados coletados de trigo, cevada e gramíneas que ocorrem com freqüência em lavouras de trigo e cevada na região do Cerrado, envolvendo coletas em vários municípios de Goiás e do Mato Grosso em vários anos (Tabela 1). Embora isolados coletados em vegetação voluntária hospedeira tenham grande similaridade genética com isolados de trigo (Bruno & Urashima, 2001), esses são reconhecidamente menos agressivos em causar sintomas de brusone em trigo (Trindade et al. 2005) e também em triticale, conforme observado nesse estudo (Tabela 3). Dentre os isolados avaliados no teste de inoculação, Py 212 coletado da gramínea capim colchão foi o menos agressivo, só produzindo sintomas característicos na testemunha suscetível cultivar de cevada BRS 180 e no genótipo TCL 500004. Dentre os isolados de trigo, Py 5994 apresentou maior agressividade e Py 201 menor agressividade.

Entre os genótipos de triticale, TCL 500011, TCL 500014 e TCL 500002, apresentaram as melhores respostas em resistência parcial a brusone nas folhas. Entretanto, o nível de resistência nesses genótipos de triticale é menor que o exibido pela cultivar de trigo BR 18 (Trindade et al. 2005). O genótipo TCL 500042 apresentou a maior média de severidade de brusone nas folhas, superando a testemunha suscetível, cevada cultivar BRS 180. Nos testes de inoculação, a cultivar de arroz Metica I apresentou resistência vertical a todos os isolados utilizados nesse trabalho, corroborando com a tese de que existe especificidade no patossistema arroz x M. grisea, não havendo infecção de genótipos de arroz por isolados do fungo

coletados de outros hospedeiros. De acordo com Young (1996) tanto a interação gene-a-gene como a interação genótipo x ambiente desempenham importante papel na expressão fenotípica de locos de resistência quantitativa. Esses locos podem ser raça-específica ou raça-não-específica.

Segundo Rathour et al. (2002) elicitores específicos presentes no fluido do esporo de germinação deste fungo podem ser responsáveis pela especificidade patógeno-hospedeiro, sendo determinantes da compatibilidade em cada patossistema. Esses elicitores poderiam ser utilizados em programas de melhoramento genético como agentes de seleção *in vitro* objetivando a obtenção de plantas resistentes a brusone oriundas de protoplastos insensitivos a esses elicitores.

A seleção para resistência parcial à brusone no campo é difícil quando ocorre uma baixa fregüência de isolados virulentos, pois uma alta suscetibilidade poderia não se expressar, e assim ser confundida com R parcial (Araújo & Prabhu, 2004). Além disso, a seleção em alguns patossistemas é difícil de ser implementada na prática devida a alta sensibilidade ao ambiente, de forma que uma cultivar com nível de resistência adequado em um local pode ser totalmente suscetível em outro (Young, 1996). Adicionalmente, quando novas seleções de plantas são geradas dos programas de melhoramento, a seleção inicial para resistência é realizada sob condições controladas. Embora componentes individuais da resistência horizontal sejam relativamente fáceis de serem mensurados sob condições controladas, eles são difíceis de serem acessados em nível de campo. Adicionalmente, falta conhecimento avançado sobre qual componente da resistência pode estar relacionado com a resposta em campo. Não há garantias

que os valores obtidos de cada componente individual medido sob condições controladas possam ser obtidos na resposta em campo. Algumas razões para essa falta de correlação surgem das diferenças nas condições ambientais e seus efeitos individuais na expressão da resistência (Deadman, 2006).

Estratégias futuras para o melhoramento de triticale, bem como de outros cereais, deverão focalizar-se em resistência durável, que proporciona amplo espectro de proteção em comparação com a resistência específica, e surge como opção segura do ponto de vista ambiental em condições de campo (Kogel & Langen, 2005). No contexto observado no presente trabalho a utilização de ferramentas biotecnológicas, bem como o mapeamento de locos que controlam características quantitativas (QTLs) para resistência a doenças, pode proporcionar a obtenção de genótipos de triticale com resistência durável e, consequentemente, a estabilidade de produção de triticale em regiões produtoras onde a brusone é de ocorrência comum, dada a falta de resistência genética no pool gênico dessa espécie e a escassez de resistência genética a esse patógeno também em outros cereais geneticamente relacionados ao triticale (Tabela 4).

Considerações Finais

Existe variabilidade genética para resistência parcial a brusone nas folhas entre os genótipos de triticale avaliados, sendo que a cultivar de arroz Metica I apresentou resistência completa aos isolados utilizados nesse estudo. A variabilidade genética existente entre os isolados avaliados é bastante grande, sendo que os isolados menos agressivos foram os coletados em gramíneas presentes em lavouras de trigo e cevada na região do cerrado e os mais

agressivos aqueles coletados em genótipos de trigo. De uma forma geral, os genótipos de triticale foram bastante suscetíveis a brusone nas folhas, não sendo identificada nenhuma fonte de resistência completa nesse conjunto avaliado que possa ser utilizada em programas de melhoramento genético para essa espécie.

Referências bibliográficas

ARAÚJO, L. G.; PRABHU, A. S. Resistência Parcial à Brusone em Somaclones da Cultivar de Arroz CICA-8. **Fitopatologia Brasileira,** v. 29, p. 394-398, 2004.

BRUNO, A. C., URASHIMA, A. S. Interrelação sexual de *Magnaporthe grisea* do trigo e de outros hospedeiros. **Fitopatologia Brasileira,** v. 26, p. 21-26, 2001.

DEADMAN, M. L. Epidemiological consequences of plant disease resistance. In: COOKE, B. M.; JONES, D. G.; KAYE, B. **The epidemiology of plant diseases**. 2. ed. Netherlands: Springer, 2006. p. 139-156.

KOGEL, K.-H.; LANGEN, G. Induced resistance and gene expression in cereals. **Cellular Microbiology**, v. 7 n. 11, p. 1555-1564, 2005.

MARTINS, T. D.; LAVORENTI, N. A.; URASHIMA, A. Comparação entre métodos de avaliação e transmissão de *Pyricularia grisea* através de sementes em triticale. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29 n. 4, p. 425-428, jul./ago. 2004.

MEHTA, Y. R.; BAIER, A. Variação patogênica entre isolados de *Magnaporthe grisea* atacando triticale e trigo no estado do Paraná. **Summa Phytopathologica**, v. 24, p. 119-125, 1998.

MINITAB INC. MINITAB Statistical Software, Release 14 for Windows, State

College, Pennsylvania, 2003, MINITAB® is a registered trademark of Minitab Inc.

PARLEVLIET, E. J. Identification and evaluation of quantitative resistance. In: LEONARD, K. J.; FRY, W. E. **Plant disease epidemiology**: population dynamics and management. New York: MacMillan, 1989. p. 215-247.

PRABHU, A. S.; FILIPPI, M. C.; CASTRO, N. Pathogenic variation among isolates of *Pyricularia oryzae* affecting rice, wheat and grasses in Brazil. **International Journal of Pest Management**, v. 38, p. 367-371, 1992.

PRABHU, A. S.; GUIMARÃES, E. P.; FILLIPI, M. C.; ARAÚJO, L. G.; CUTRIM, V. A. Expression of resistance in rice hybrids to *Pyricularia grisea*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, p. 454-460, 2002.

RATHOUR, R.; SINGH, M.; PLAHA, P. Host species-specific protoplast damaging activity of spore germination fluids of blast pathogen *Maganapothe grisea*. **Journal of Phytopathology**, v. 150, p. 576-578, 2002.

TRINDADE, M. G.; PRABHU, A. S.; SILVA, M. S. Assessment of partial resistance to blast in wheat cultivars from the brazilian cerrado. In: INTERNATIONAL WHEAT CONFERENCE, 7., 2005, Mar del Plata, Argentina. Wheat production in stressed environments: absracts. Mar de Plata: INTA, 2005. 1 CD-ROM.

YOUNG, N. D. QTL mapping and quantitative disease resistance in plants. **Annual Review of Phytopatology**, v. 34, p. 479-501, 1996.

Tabela 1. Isolados utilizados nos testes de inoculação, suas origens, local e ano de coleta.

Isolados	Hospedeiro/Cultivar	Município/Estado	Ano
Py 5994	Trigo /Cultivar não informada	Rio Verde/Goiás	2002
Py 7608	Trigo /BR 17	Costa Rica / MS	2004
Py 5996	Trigo /Cultivar não informada	Rio Verde/Goiás	2002
Py 7601	Trigo /BR 17	Costa Rica / MS	2004
Py 201	Trigo / Anahuac	Mato Grosso do Sul	1995
Py 7612	Trigo / BH 1146	Alto Taquari / Mato Grosso	2004
Py 213	Capim pé de galinha	St. Antônio de Goiás/Goiás	± 1989
Py 212	Capim colchão	St. Antônio de Goiás/Goiás	± 1989
Py 5990	Cevada /Cultivar não informada	Rio Verde/Goiás	2002
Py 5994	Trigo/Cultivar não informada	Rio Verde/Goiás	2002

Tabela 2. Resultado da Análise de variância para variável severidade de brusone nas folhas, indicando as respectivas fontes de variação, graus de liberdade, soma de quadrados, quadrados médios, F, probabilidade de obtenção de estimativas superiores aos valores observados e a porcentagem de participação na variação total. Santo Antônio de Goiás, GO, 2006.

Fontes de Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Probabilidade	% Variação total
Isolados	7	155490,80	22212,97	31,62	0,000036	93,51
Erro A	8	5619,98	702,50	-		
Genótipos	14	7485,91	534,71	4,76	0,000000	2,25
Interação	98	18833,82	192,18	1,71	0,002302	0,47
Erro B	112	12572,10	112,25	-	-	
Total	239		_	-	-	

Tabela 3. Resultados do teste de Tukey para comparação de médias*, respectivas médias de tratamentos, diferença mínima significativa (DMS) e coeficiente de variação para a variável severidade de brusone nas folhas em genótipos de triticale. Santo Antônio de Goiás, 2006.

I/C	5990	5994	213 <i>E.</i>	7608	183	5996	7601	201 Trigo	Média
	Cevada	Trigo	indica	Trigo	Trigo	Trigo	Trigo		
Cevada BRS 180	76,87aA	70,41aA	42,08aA	68,75abAB	70,09abcA	83,75aA	74,16abA	34,58abA	65,09
TCL 500001	83,75aA	88,75aA	7,50abA	61,25abcAB	62,50abcA	86,25aA	85,00aA	25,00abA	62,50
TCL 500002	75,00aA	80,5 aA	2,50bA	49,68abcAB	66,25abcA	83,12aA	76,25abA	16,25abA	56,19
TCL 500003	75,00aA	71,25aA	7,50abA	55,00abcAB	42,50cA	72,50aA	81,25abA	6,25bA	51,41
TCL 500004	75,00aA	91,56aA	2,50bA	52,50abcAB	61,25abcA	82,91aA	84,06abA	40,00abA	61,22
TCL 500005	78,75aA	91,25aA	10,00abA	70,00abAB	45,00bcA	82,50aA	78,75abA	16,25abA	59,06
TCL 500008	79,18aA	85,00aA	5,00bA	66,25abcAB	80,00abA	77,50aA	72,50abA	25,00abA	61,30
TCL 500009	80,00aA	85,00aA	12,50abA	76,25aA	76,25abcA	88,75aA	67,50abA	16,25abA	62,81
TCL 500010	85,00aA	86,25aA	5,00bA	67,50abcAB	46,25abcA	80,00aA	76,25abA	15,00abA	57,66
TCL 500011	56,25aA	88,75aA	30,62abA	31,56cB	45,00bcA	72,50aA	73,12abA	11,25abA	51,13
TCL 500012	89,06aA	76,25aA	3,57bA	53,75abcAB	82,29aA	82,50aA	73,95abA	13,12abA	59,31
TCL 500014	63,75aA	84,06aA	7,50abA	42,50abcAB	46,75abcA	80,00aA	47,50bA	12,50abA	48,07
TCL 500024	67,50aA	78,75aA	18,75abA	51,25abcAB	40,00cA	80,00aA	68,75abA	7,50bA	51,56
TCL 500030	76,25aA	83,33aA	36,25abA	36,25bcAB	57,50abcA	85,00aA	66,25abA	15,00abA	56,98
TCL 500042	85,00aA	87,50aA	13,75abA	70,00abAB	80,00abA	83,75aA	82,50abA	47,50aA	68,75
Média	76,42	83,24	13,67	56,83	60,11	81,40	73,85	20,10	

^{*} Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna (comparações entre cultivares) e maiúscula na linha (comparação entre isolados) não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 4. Índice de resistência parcial a brusone nas folhas em genótipos de triticale com relação ao genótipo TCL 500042. Santo Antônio de Goiás, 2006.

Genótipos	Severidade Média de	Índice de resistência parcial a
	brusone nas folhas	brusone nas folhas*
Cevada BRS 180	57,45	0,053
TCL 500001	55,45	0,091
TCL 500002	49,70	0,183
TCL 500003	45,69	0,252
TCL 500004	54,85	0,110
TCL 500005	52,44	0,141
TCL 500008	54,43	0,108
TCL 500009	55,83	0,086
TCL 500010	51,18	0,161
TCL 500011	45,07	0,256
TCL 500012	52,78	0,137
TCL 500014	42,45	0,301
TCL 500024	45,12	0,250
TCL 500030	51,06	0,171
TCL 500042	61,11	0,000

^{*} IRP = 1-(Severidade média de brusone nas folhas no genótipo considerado / Severidade média de brusone nas folhas no genótipo TCL 500042). Quando IRP = 0, o genótipo avaliado não apresenta resistência parcial como o genótipo utilizado como padrão de suscetibilidade (TCL 500042) e quando IRP = 1, o genótipo apresenta resistência completa (Arroz, cultivar Metica I).



Comunicado Técnico Online, 199

Caixa Postal, 451, CEP 99001-970 Passo Fundo, RS Fone: (54) 3316 5800 Fax: (54) 3316 5802 E-mail: sac@cnpt.embrapa.br Expediente

Comitê de Publicações Presidente: Leandro Vargas

Ana Lídia V. Bonato, José A. Portella, Leila M. Costamilan, Márcia S. Chaves, Maria Imaculada P. M. Lima, Paulo Roberto V. da S. Pereira, Rainoldo A. Kochhann, Rita Maria A. de Moraes

Referências bibliográficas: Maria Regina Martins Editoração eletrônica: Márcia Barrocas Moreira Pimentel

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

TRINDADE, M. da G.; NASCIMENTO JÚNIOR, A. do; SIQUEIRA, M. M. H.; SILVA, H. L. M. da; PRABHU, A. S. **Especificidade da resistência em patossistemas envolvendo** *Magnaporthe grisea* e cereais. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2006. 8 p. html. (Embrapa Trigo. Comunicado Técnico Online, 199). Disponível em: http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/co/p co199.htm>.