

Foto: Maria da Glória Trindade



## Resistência parcial de genótipos de trigo a brusone nas folhas

Maria da Glória Trindade<sup>1</sup>, Anne Sitarama Prabhu<sup>2</sup> e Márcio Só e Silva<sup>3</sup>

### Introdução

A brusone (*Magnaporthe grisea*) é o principal fator limitante da produtividade do trigo safrinha no Cerrado brasileiro. Esse patógeno também é agente causal da brusone do arroz e ocorre naturalmente em várias espécies de plantas daninhas presentes nas lavouras de trigo e arroz. Com relação ao patógeno *M. grisea*, existem diversos subgrupos, cada um restrito a um determinado grupo de hospedeiros apresentando estreita especificidade às espécies de gramíneas. Estudos preliminares indicam que nenhum dos isolados do fungo provenientes de trigo e de outras gramíneas infecta o arroz (Couch et al., 2005). Por outro lado, os isolados de *M. grisea* provenientes de arroz, trigo e gramíneas como *Digitaria sanguinalis*, *Rhynchelytrum riseum*, *Pennisetum setosum* e *Eleusine indica* são patogênicos às cultivares de trigo (Prabhu et al., 1992). O fluxo gênico dentro de isolados do patógeno derivados de arroz é baixo, porque a maioria dos isolados é constituído de fêmea estéril e somente pode trocar genes através de cruzamentos com isolados hermofroditas provenientes de outros hospedeiros.

Populações desse fungo são reconhecidas mundialmente por apresentarem alta

variabilidade genética e serem agentes patogênicos a muitas espécies de cereais que são importantes culturas agrícolas. Sua ocorrência já foi relatada em mais de 50 espécies de gramíneas de ocorrência natural em áreas de cultivo de cereais (Ou, 1985). Na cultura do arroz, são reconhecidos vários mecanismos de geração de variabilidade em populações naturais do fungo, incluindo recombinação mitótica, recombinação parassexual e fusão de hifas, e já foram identificados vários genes maiores de resistência a esse patógeno.

A resistência vertical, por ser geneticamente mais simples, tem sido extensivamente analisada por métodos tradicionais de Fitopatologia, Genética e Melhoramento de Plantas. A resistência completa é caracterizada pela prevenção da reprodução do fungo em interações incompatíveis entre hospedeiro e patógeno (Zenbayashi et al., 2002). Este tipo de resistência vem sendo muito utilizado no melhoramento de cultivares como parte integrante do programa de seleção de genótipos. Formas mais complexas de resistência a doenças, envolvendo herança quantitativa e vários genes de efeitos menores, entretanto, são ainda pouco entendidas e utilizadas no melhoramento

<sup>1</sup> Engenheira agrônoma, M.Sc. em Genética e melhoramento de plantas, Embrapa Trigo, Cx. P. 451, Passo Fundo, RS, Brasil, 99001-970, [mgloria@cnpaf.embrapa.br](mailto:mgloria@cnpaf.embrapa.br);

<sup>2</sup> Bióloga, D.Sc. em Fitopatologia, Embrapa Arroz e Feijão, Cx. P. 179, S. Ant. de Goiás, GO, Brasil.75375-000, [prabhu@cnpaf.embrapa.br](mailto:prabhu@cnpaf.embrapa.br);

<sup>3</sup> Engenheiro agrônomo, M.Sc. em Fitotecnia, Embrapa Trigo, Cx. P. 451, Passo Fundo, RS, Brasil, 99001-970, [soesilva@cnpf.embrapa.br](mailto:soesilva@cnpf.embrapa.br).

de cultivares. Grande parte da dificuldade de utilização desse tipo de resistência advém da dificuldade de seleção em campo, dada a presença de genes maiores para resistência vertical que mascara a expressão da resistência quantitativa em campo. Nesse tipo de resistência ocorre uma redução na reprodução do patógeno em interações compatíveis entre patógeno e hospedeiro e, portanto, a resistência é estável a diferentes raças do fungo, sendo considerada uma das medidas mais promissoras para o controle da brusone em arroz (Zenbayashi et al., 2002). Genes menores podem desempenhar um importante papel na manutenção de níveis aceitáveis de doença em condições de campo. Tais genes são de difícil seleção na presença de genes maiores em função da ocorrência de interações epistáticas entre eles (Babujee & Gnanamanickam, 2000). No entanto, ferramentas da genética quantitativa estão disponíveis desde longa data e procedimentos modernos de seleção de locos que controlam características quantitativas (QTLs) assistida por marcadores moleculares podem facilitar o trabalho do melhoramento de plantas com a finalidade de desenvolver cultivares com amplo espectro de resistência a doenças em vários ambientes.

A resistência parcial é caracterizada por uma reação de suscetibilidade, com baixa severidade da doença. A resistência parcial é raça não-específica e de origem poligênica, embora em alguns casos tenha sido relatada resistência parcial de herança oligo ou monogênica. Fenotipicamente é expressa em características tais como capacidade de infecção reduzida e longo período de latência de modo que o número de lesões que se desenvolve em cultivares parcialmente resistentes é bem menor do que o que ocorre nas cultivares mais suscetíveis (Burdon, 1992). No patossistema trigo X *Magnaporthe grisea* não são conhecidos genes de resistência vertical e a maioria dos genótipos atualmente recomendados para as regiões produtoras onde a brusone é de ocorrência comum, tem se mostrado suscetível a esse fitopatógeno. O desenvolvimento de genótipos resistentes a essa doença

tornou-se recentemente um dos principais objetivos dos programas de melhoramento genético de trigo para as regiões tritícolas do Brasil Central e Centro-Sul do Brasil, onde os danos causados por essa doença são bastante intensos em anos onde as condições ambientais são favoráveis à ocorrência da doença.

A brusone pode ocorrer na cultura do trigo em duas fases distintas do ciclo da cultura. No período vegetativo o fungo ataca principalmente as folhas. Nesse período os danos causados limitam-se à restrição fotossintética pela redução da área foliar com necrose dos tecidos vegetais. Em arroz, a ocorrência de brusone nas folhas influencia a variabilidade das populações do fungo nas panículas, embora não seja a fonte mais importante. Posteriormente, o fungo ataca as espigas podendo provocar severas reduções de rendimento, dependendo da fase de desenvolvimento da espiga e do ponto de penetração do fungo na espiga.

A resistência parcial ou quantitativa de uma cultivar não pode ser acessada em termos absolutos. É, portanto, uma medida relativa em comparação a uma cultivar padrão que representa o genótipo mais suscetível do conjunto avaliado (Ribeiro do Vale et al., 2001). A quantidade de tecido afetada é um bom estimador da quantidade de patógeno presente, que seria a medida ideal, mas muito difícil de ser implementada na prática.

O objetivo desse trabalho foi avaliar as principais cultivares de trigo indicadas para a região do cerrado brasileiro quanto a resistência parcial a brusone nas folhas.

## **Materiais e Métodos**

### **Metodologia para avaliação da resistência parcial em genótipos de trigo**

A severidade de brusone nas folhas foi acessada em 14 cultivares de trigo, uma cultivar de arroz e uma cultivar de cevada (Tabela 3) em um ensaio conduzido em casa-de-vegetação. Foram feitas inoculações artificiais, em condições

controladas, para identificar isolados hospedeiros e não-hospedeiros de *M. grisea* de trigo e arroz. 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 por 3 kg de solo), utilizando-se o delineamento experimental Inteiramente ao Acaso com parcelas subdivididas. Nas parcelas foram alocados os isolados num total de 18 (Tabela 1) e nas subparcelas os genótipos, num total de 16 e duas repetições/bandeja. As inoculações foram feitas com uma suspensão aquosa de esporos ( $3 \times 10^5$  conídios/ml), 21 dias após a emergência das plântulas, conforme metodologia descrita em Prabhu et al. (1992). Os isolados de *M. grisea* utilizados nesse trabalho foram coletados de trigo, dois de gramíneas (*Digitaria horizontalis* e *Eleusine indica*), um de cevada e um de arroz. Os isolados coletados em lavouras de trigo representam ampla diversidade genética e distribuição geográfica no Brasil (Tabela 1).

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 (Prabhu et al., 2002). Para cada subparcela foi avaliado um total de 10 folhas, compreendendo 20 folhas para cada genótipo dentro de cada isolado.

Os dados de severidade de brusone nas folhas foram submetidos à análise de variância, considerando-se o modelo matemático  $Y_{ijk} = m + E_{ij} + S_j + PS_{ij} + D_{ijk}$ , em que os efeitos  $P_i$ ,  $S_j$  e  $PS_{ij}$  foram considerados fixos. As médias de tratamentos foram comparadas entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade utilizando-se o software Minitab Release 14. Utilizou-se para efeito de normalização dos dados a transformação da variável original para  $ArcSen\sqrt{x}$ . O índice de resistência parcial (IRP) foi calculado em relação a testemunha suscetível Cevada BRS 185, a qual apresentou maior média de severidade de brusone nas folhas.

**Tabela 1.** Isolados utilizados nos testes de inoculação, suas origens, local e ano de coleta. Santo Antônio de Goiás, 2006.

Isolados	Hospedeiro/Cultivar	Local/Estado	Ano
Py 182	Trigo /Anahuac	Mato Grosso do Sul	1988
Py 5994	Trigo / Cultivar não identificada	Rio Verde/Goiás	2002
Py 7596	Trigo / PF 89375	Montividiu / Goiás	2004
Py 7608	Trigo /BR 17	Costa Rica / MS	2004
Py 183	Trigo /Anahuac	Mato Grosso do Sul	1988
Py 5996	Trigo / Cultivar não identificada	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 7618	Trigo / BH 1146	Alto Taquari / Mato Grosso	2004
Py 204	Trigo / Anahuac	Mato Grosso do Sul	1988
Py 7599	Trigo / PF 89375	Montividiu / Goiás	2004
Py 7606	Trigo / BR 17	Costa Rica / MS	2004
Py 7600	Trigo / BR 17	Costa Rica / MS	2004
Py 212	Gramínea / <i>Digitaria horizontalis</i>	Goiás	1989
Py 195	Gramínea / <i>Eleusine indica</i>	Goiás	1989
Py 5990	Cevada / Cultivar não identificada	Rio Verde/Goiás	2002
Py 3970	Arroz / Bonança	Goiás	2002

**Tabela 2.** Resultados da análise de variância comparando efeitos de isolados, cultivares e interação isolados x cultivares nos testes de inoculação com dezoito isolados de *Magnaporthe grisea*, Santo Antônio de Goiás, 2005.

Fontes de variação	Graus de liberdade	Quadrado Médio	F	% Participação na variação total
Isolados	17	127272.12	282.06**	38.47
Erro A	323	451.22	-	-
Cultivares	15	195181.18	740.58**	58.99
Interação C x I	255	4360.23	16.54**	7.97
Erro B	5130	263.55	-	-

**Tabela 3.** Índice de resistência parcial a brusone nas folhas em genótipos de trigo, avaliados sob condições controladas, com relação à cultivar de cevada BRS 180, testemunha suscetível. Santo Antônio de Goiás, 2005.

Cultivares	Média de severidade (%)	Índice de Resistência Parcial*
<b>Cultivares de sequeiro</b>	<b>76,13</b>	<b>0,2026</b>
Aliança	89,37	0,0640
Brilhante	76,59	0,1978
BR 18	56,11	0,4123
BRS 208	89,86	0,0589
BRS 234	68,75	0,2800
<b>Cultivares irrigadas</b>	<b>85,07</b>	<b>0,1090</b>
Ágata	95,41	0,0007
Embrapa 22	85,34	0,1062
BR 33	86,73	0,0916
Embrapa 42	90,13	0,0560
BRS 207	68,33	0,2844
BRS 210	81,52	0,1462
BRS 254	81,87	0,1425
BRS 264	87,98	0,0786
Pioneiro	88,33	0,0749
<b>Cultivares testemunhas</b>	<b>47,74</b>	<b>0,5000</b>
Cevada	95,48	0,0000
Arroz	0,00	1,0000

\* IRP = 1 - (Severidade média de brusone nas folhas no genótipo considerado / Severidade média de brusone nas folhas na cultivar de cevada BRS 185, testemunha suscetível). Quando IRP = 0, o genótipo avaliado não apresenta resistência parcial como o genótipo utilizado como padrão de suscetibilidade (Cevada) e quando IRP = 1, o genótipo apresenta resistência completa (Arroz, cultivar Metica I).

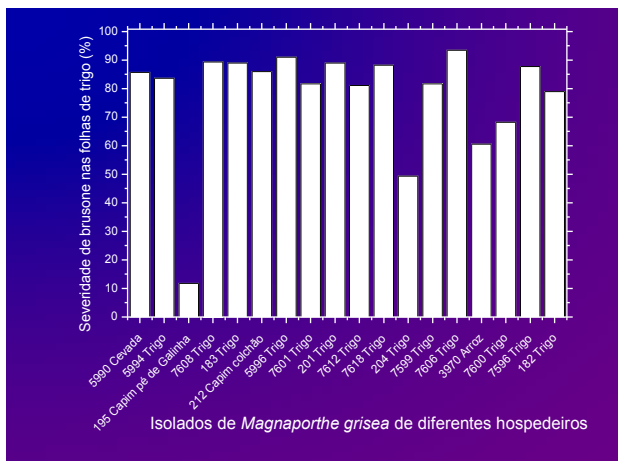
## Resultados e Discussão

Os resultados obtidos pela análise de variância indicaram diferenças altamente significativas para as fontes de variação Isolados, Genótipos e Interação Isolados x Genótipos, conforme indicado na Tabela 2, indicando diferenças na resistência parcial a brusone entre os genótipos de trigo e na agressividade entre os isolados de *M. grisea* utilizados nesse trabalho (Fig. 1). Embora a interação isolados x genótipos tenha sido significativa, a porcentagem de participação na variação total foi pequena (7,97%). Prabhu et al. (2002) também demonstrou pequenas interações entre isolados e genótipos, indicando a natureza específica da resistência parcial. No presente estudo, a maior parte da variação foi explicada por efeitos principais de genótipos e isolados e somente uma pequena variação foi devida a interação. Estas pequenas interações sugerem que a resistência parcial é controlada por genes menores que operam na relação gene-a-gene. O conjunto de isolados selecionados para esse estudo amostrou isolados coletados de trigo, cevada e gramíneas que ocorrem com frequência 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 capins tenham uma grande similaridade genética com isolados de trigo (Bruno & Urashima, 2001), podendo possivelmente explicar a origem da brusone do trigo no Brasil, diferenças na agressividade entre isolados coletados de gramíneas foram observadas no presente estudo (Fig. 1). Entre os isolados avaliados nesse trabalho, o isolado coletado da gramínea capim pé-de-galinha (*Eleusine indica*) foi o menos agressivo nas cultivares de trigo, embora a média de severidade de brusone nas folhas para esse isolado tenha alcançado 72,5% na testemunha suscetível, cultivar BRS 185 de cevada. Para a maioria das cultivares, não houve diferenças significativas na média de severidade entre os isolados coletados de trigo e o isolado coletado da gramínea capim colchão (*Digitaria horizontalis*), sendo esse isolado, em média, mais agressivo do que outros

coletados diretamente do trigo. Essa observação reforça a importância dos hospedeiros alternativos como fonte de inóculo para a brusone do trigo, uma vez que essas gramíneas são de ocorrência natural nas lavouras de trigo na região do cerrado. Além disso, isolados coletados de arroz, embora apresentem geralmente baixa similaridade genética com isolados de trigo (Bruno & Urashima, 2001; Couch et al., 2005) também são potencialmente capazes de causarem brusone tanto em trigo quanto em outros cereais, não sendo observada, entretanto, a relação inversa.

O desenvolvimento de cultivares resistentes é um meio efetivo de controle de doenças quando considerável variabilidade genética existe no germoplasma da espécie considerada. Entretanto, quando as fontes de resistência são limitadas deve-se buscar por fontes em espécies geneticamente relacionadas em que as hibridações para transferência de genes para a espécie cultivada são passíveis de serem executadas. No patossistema trigo x *M. grisea* a utilização de genes de resistência diretamente do arroz permanece como uma potencialidade em função do grau de sintonia existente entre essas duas espécies. A clonagem de genes de resistência, teoricamente, permite a transferência de genes entre espécies geneticamente mais distantes. A transferência interespecífica de genes R apresenta-se atualmente como uma importante fonte adicional de genes de resistência a inúmeras doenças de plantas (Hulbert et al., 2001).

Na cultura do trigo vários genes para resistência a doenças foram introduzidos com sucesso por eventos de transformação genética, muito embora na maioria desses casos a transferência tenha contemplado apenas um único gene (Janakiraman et al., 2002). Formas mais complexas de resistência a doenças em trigo, envolvendo herança oligo ou poligênica ainda não foram adequadamente contempladas em programas de melhoramento envolvendo a transformação genética.



**Fig. 1.** Agressividade dos isolados de *Magnaporthe grisea* originários de diferentes hospedeiros que representam ampla diversidade genética e distribuição geográfica no Brasil sob condições controladas.

A cultivar de arroz Metica I apresentou resistência completa a todos os isolados de trigo e outras gramíneas avaliados nesse estudo, o que indica a alta especificidade existente no patossistema arroz x *M. grisea*. Em arroz já foram identificados mais de 30 genes e QTLs para resistência a brusone por métodos convencionais baseados em análise de ligação e frequência de recombinação. Mais recentemente, parte desses genes foi mapeada facilitando sua identificação em populações segregantes após a hibridização (Babujee & Gnanamanickam, 2000), de forma que esses genes podem ser utilizados com fonte de resistência para outras espécies de cereais através das ferramentas de biotecnologia atualmente disponíveis.

Dentre os genótipos de trigo avaliados nesse trabalho, a cultivar BR 18 destacou-se por apresentar o melhor nível de resistência parcial, corroborando com o que já foi descrito em outros trabalhos, conforme demonstrado na Tabela 3. A média do índice de resistência parcial das cultivares de sequeiro foi superior (0,2026) ao das cultivares irrigadas (0,1090) indicando a importância do ambiente na seleção indireta para resistência parcial. As cultivares de sequeiro são desenvolvidas

em um sistema de produção onde a brusone ocorre comumente, causando epidemias em anos em que as condições climáticas são favoráveis à ocorrência da doença. No sistema de produção irrigado o plantio é efetuado no inverno onde as temperaturas são mais amenas e geralmente a brusone ocorre apenas esporadicamente em alguns anos e locais. A grande maioria das cultivares de trigo recomendadas atualmente para a região do cerrado apresenta baixo grau de resistência parcial comprovando a necessidade da busca iminente por outras fontes de resistência a essa doença em outras espécies geneticamente relacionadas.

### Considerações Finais

Todos os isolados testados foram virulentos às cultivares de trigo, incluindo isolados de arroz, cevada e gramíneas, mas demonstraram diferenças na agressividade. O isolado da gramínea *E. indica* foi menos agressivo nas cultivares de trigo. As cultivares de trigo demonstraram reação de suscetibilidade a todos os isolados, mas exibiram diferenças no grau de resistência parcial. A cultivar BR 18, genótipo mais semeado na região do cerrado no cultivo de safrinha, demonstrou o melhor nível de resistência parcial comparada aos outros genótipos de trigo testados. Nenhum dos isolados foram virulentos a cultivar Bonança de arroz, com exceção do isolado de arroz utilizado como controle (raça IB-9). Uma vez que nenhuma das cultivares demonstrou elevado grau de resistência, há a necessidade iminente de obtenção de novas fontes de resistência, considerando a ocorrência de brusone em trigo em proporções epidêmicas na região do cerrado.

### Referências Bibliográficas

BABUJEE, L.; GNANAMANICKAM, S. S. Molecular tools for characterization of rice blast pathogen (*Magnaporthe grisea*) population and molecular marker-assisted breeding for disease resistance. **Current Science**, v. 78, n. 3, p. 10, Feb. 2000.



BRUNO, A.C.; URASHIMA, A.S. Inter-relação sexual de *Magnaporthe grisea* do trigo e de outros hospedeiros.

**Fitopatologia Brasileira**, v. 26, p. 21-26, 2001.

BURDON, J. J. Genetic variation in pathogen populations and its implications for adaptation to host resistance. In: JACOBHS, T. H.; PARLEVLIET, J. E. (Ed.). **Durability of disease resistance**. Dordrecht: Kluwer, 1992. p. 41-56.

COUCH, B.C; FUDAL, I.; LEBRUN, M.; THARREAU, D.; VALENT, B.; VAN KIM, P.; NOTTE´GHEM, J.; 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**, v. 170, p. 613-630, June 2005.

HULBERT, S. H.; WEBB, C. A.; SMITH, S. M.; SUN, Q. Resistance gene complexes: evolution and utilization. **Annual Review of Phytopathology**, v. 39, p. 285-312, 2001.

JANAKIRAMAN, V.; STEINAU, M.; MCCOY, S.B .; TRICK, H. N. Recent advances in wheat transformation. **In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, v. 38, p. 404-414, Sep./Oct. 2002.

OU, S. H. **Rice disease**. 2. ed. Kew: CMI, 1985. 380 p.

PRABHU, A. S.; FILLIPI, M. C.; CASTRO, N. Pathogenic variation among isolates of *Pyricularia oryzae* affecting rice, trigo, and grasses in Brazil. **Tropical 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.

RIBEIRO DO VALE, F. X.; PARLEVLIET, J. E.; ZAMBOLIM, L. Concepts in plant disease resistance. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, p. 577-589, 2001.

ZENBAYASHI, K.; ASHIZAWA, T.; TANI, T.; KOIZUMI, S. Mapping of the QTL (quantitative trait locus) conferring partial resistance to leaf blast in rice cultivar Chubu 32. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 104, p. 547-552, 2002.



**Comunicado  
Técnico Online, 201**

Embrapa Trigo  
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 Lúcia 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

**Ministério da Agricultura,  
Pecuária e Abastecimento**



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

TRINDADE, M. da G.; PRABHU, A. S.; SÓ E SILVA, M. **Resistência parcial de genótipos de trigo a brusone nas folhas**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2006. 8 p. html. (Embrapa Trigo. Comunicado Técnico Online, 201). Disponível em: <[http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/co/p\\_co201.htm](http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/co/p_co201.htm)>.