

*PYRICULARIA*

5





## 5. PYRICULARIA



El módulo “Pyricularia” tiene una característica especial, que es la de tratarse de una enfermedad que no ocurre en forma generalizada en todos los países integrantes del Cono Sur. La enfermedad, conocida como brusone del trigo, ha sido extremadamente agresiva y perniciosa en Brasil, Paraguay y Bolivia. En Brasil, ocurre con frecuencia en los estados de Paraná, San Pablo, Mato Grosso del Sur y demás estados del Cerrado Brasileiro, donde se cultiva trigo. En la zafra 2009, ocurrió más de una vez un empuje de epidemia de esta enfermedad, preocupando especialmente a las personas involucradas en la problemática.

Las actividades relativas al módulo “Pyricularia” fueron desarrolladas en Brasil y conducidas con recursos de contraparte de Embrapa. Estas actividades fueron direccionadas hacia dos puntos principales, la resistencia de genotipos de trigo a la enfermedad y la variabilidad del patógeno. Sobre la resistencia al brusone, se realizó una evaluación de la reacción a la enfermedad de los llamados trigos sintéticos, derivados del cruzamiento artificial *Aegilops squarrosa* y *Triticum aestivum*, y en trigos comunes. En la cuestión de variabilidad del patógeno, se realizaron dos abordajes. El primero involucra la caracterización de la agresividad de aislamientos de *P. grisea* de varios lugares de Brasil, y el segundo, la caracterización genética de esos mismos aislamientos, usando “primers” de microsatélites. Vale aclarar que buena parte de las actividades realizadas en ese módulo contaron con la participación fundamental de Ariano Moraes Prestes y de María Fernanda Antunes da Cruz; el primero, profesor-orientador del curso de Post-grado en Agronomía de la Universidad de Passo Fundo y la segunda, estudiante de maes-

tría del referido curso durante el período al que se refiere este informe. Los dos abordajes antes citados fueron, inclusive, la parte principal de objeto de estudio de la disertación de la maestría de la estudiante.

### **Población patogénica de *Pyricularia grisea***

El estudio fue realizado en el laboratorio de Fitopatología y casa-de-vegetación de Embrapa Trigo y se utilizaron 18 aislamientos monospóricos de *P. grisea* de trigo, obtenidos de muestras de plantas con síntomas de brusone, provenientes de los estados de Río Grande del Sur, Paraná, Minas Gerais y Goiás. Para la primera etapa del trabajo fueron escogidos del Banco de Germoplasma (BAG) de Embrapa Trigo, 70 genotipos de trigo para las inoculaciones en el estadio de planta joven (estadio 14 de la escala de Zadoks et al., 1974). De estos, 50 son cultivares comerciales y linajes de trigo hexaploide de 20 genotipos de trigo hexaploide sintético, resultante del cruzamiento entre *Triticum durum* y *Aegilops squarrosa*. Los genotipos fueron escogidos a través de una selección que buscó establecer un grupo con amplia diversidad genética. Para la validación de la reacción de planta adulta (estadio 60,61 de la escala de Zadoks et al., 1974) fueron seleccionados 12 genotipos, de los siguientes cinco trigos sintéticos (NE 20156-B; PF 844001; PF 844002; PF 964009; PF 804002) y siete cultivares de panificación (CNT8; BRS 120; BRS 194; BRS Buriti; BR 18; BRS Camboatá y BRS Louro).

En el análisis de los datos de severidad en espiga el aislamiento más virulento fue Py 5005, que no difirió estadísticamente de Py 6001, Py 6008, Py

6030. En cuanto a los genotipos, el que presentó menor área afectada fue el CNT 8, que no difirió del genotipo sintético PF 844001. En hoja bandera los aislamientos más virulentos fueron los Py 6001, Py 5002, Py 6003 y Py 5039. Las menores medias de severidad fueron observadas en los genotipos de trigo sintético: NE 20156-B, PF 844001, PF 964009, PF 804002, los cuales no diferían estadísticamente del cultivar CNT 8. En comparación con las inoculaciones en la fase vegetativa, merece ser destacado el aislamiento Py 5002 que en la fase de planta joven fue el menos virulento, ya en la fase de planta adulta se comportó como el más virulento. No fue posible diferenciar los aislamientos en cuanto a su agresividad para la región geográfica de la cual fueron recolectadas las muestras, mucho menos hacer alguna relación con la porción de la planta de la cual el aislamiento fue obtenido para ninguna de las validaciones.

También se realizó otra investigación en Embrapa Trigo, específicamente en los laboratorios de fitopatología y biología molecular de Embrapa Trigo. El referido trabajo tuvo un abordaje molecular en relación a la variabilidad de *P. grisea*. El DNA de 18 aislamientos monospóricos de *P. grisea*, obtenidos de Paraná, Río Grande del Sur, Minas Gerais y Goiás, fue ampliado utilizando los marcadores microsatélites PG3, PG5, PG12, PG20, PG15, PG21, MG1 y MG21. Estos marcadores microsatélites fueron desarrollados a partir del DNA de *P. grisea* obtenido del arroz. Los datos de polimorfismo de DNA de los aislamientos de hongos detectados vía marcadores microsatélites fueron analizados empleándose el estimador de similitudes genéticas entre los dos aislamientos. De esta forma fue necesaria la construcción de una matriz de similitudes genéticas conteniendo datos binarios para cada "primer" utilizado. Se atribuye valor 0 para la ausencia de alelo y valor 1 para la presencia de alelo. A partir de la matriz de similitudes genéticas y de virulencia, fue posible la construcción de dos dendrogramas con base en el análisis molecular. El dendrograma de virulencia fue construido a partir de la reacción de 70 genotipos de plantas jóvenes de trigo, sometidas a la inoculación con

18 aislamientos monospóricos de *P. grisea*. Para la construcción de dendrogramas se utilizó el programa NTSYSpc 2.02. Para estimar las similitudes genéticas entre los aislamientos se utilizó el coeficiente de Jaccard. Para el agrupamiento jerárquico de los aislamientos se utilizó el método UPGMA (Unweighted Pair Group Method Using Arithmetic Averages). De los 8 loci analizados, el primero más informativo fue el PG 5, que presentó 4 alelos. Más allá de eso, los primeros, MG 21 y PG 12 permitieron separar los aislamientos Py 5020 y Py 5038 en un grupo bastante distinto, con menos de 50% de similitudes en relación a los demás aislamientos. La mayoría de los aislamientos (16) presentó más de un 75% de similitudes entre sí. No fue posible agrupar los aislamientos conforme a su origen geográfico. En el análisis de virulencia, 15 de los 18 aislamientos evaluados presentaron más de 85% de similitud entre sí.

El agrupamiento de los aislamientos, de acuerdo con el grado de similitud que los mismos presentan entre sí, fue muy semejante en los dos criterios utilizados en esta investigación, con excepción del aislamiento Py 5002, que presentó una relación distinta a los demás aislamientos de acuerdo con el criterio adoptado para clasificarlos, el padrón molecular de virulencia.

### **Resistencia genética de germoplasma de trigo al brusone**

En la investigación conducida en el laboratorio de fitopatología y en invernáculo de Embrapa Trigo y utilizando 18 aislamientos monospóricos de *P. grisea* de trigo en 70 genotipos de trigo, los resultados obtenidos permiten concluir que la variación en el grado de susceptibilidad presentado por los genotipos que presentan del 9.15% al 61.55% del área foliar afectada, es un indicativo de la presencia de resistencia parcial entre los genotipos estudiados. No hubo confirmación de resistencia verificada en planta joven, con resistencia en planta adulta para la mayoría de los genotipos, con excepción de CNT 8, que fue uno de los genotipos menos susceptibles en todas las evaluaciones (planta joven, hoja

bandera y espiga). Los genotipos sintéticos se destacaron tanto en la reacción en hoja como en la reacción en espiga, por presentar menor área afectada por la enfermedad, ya en planta joven la mayoría de los genotipos sintéticos se comportaron como susceptibles. Por eso, cabe resaltar la presencia del genotipo NE 20158-X entre los genotipos que presentaron menos de 12% de área foliar afectada en el estadio de planta joven. Bajo las condiciones que fue llevada la investigación, los resultados obtenidos permiten concluir que el padrón de virulencia de la mayoría de los aislamientos de *P. grisea* de trigo estudiado es homogéneo y hay baja correlación de resistencia al brusone entre espigas y hoja de trigo.

Se efectuó una segunda evaluación de plantas adultas, también conducida en las instalaciones de Embrapa Trigo, en Passo Fundo, RS, en 2008. Fueron realizados dos ensayos. En cada uno de ellos se utilizó un aislamiento monospórico de *P. grisea* diferente en los procedimientos de inoculación. En el primer ensayo, la inoculación fue realizada el 17 de septiembre utilizando el aislamiento Py 5038 y,

en el segundo, se utilizó un aislamiento Py 6030 en la inoculación realizada el 17 de octubre. El aislamiento Py 5038 fue obtenido de la raíz de una planta de trigo de cultivar BRS 220, recolectada en Londrina, PR, en 2005, y el aislamiento Py 6030, de la raíz de una planta de trigo de cultivar BRS 208, recolectada en Goiania, GO, en 2006. Los genotipos de trigo del Banco de Germoplasma (BAG) de Embrapa Trigo utilizados en el experimento, fueron los siguientes: Aliança, Anahuac, Babax, BH 1146, BR 18, BR 24, MGS Brillhante, BRS 220, BRS 229, BRS 254, BRS 264, BRS Guamirim, BRS Pardela, EMBRAPA 21, EP 011210, BRS 276, IAC 350, IPF 79812, LD 0319, OCEPAR 14, PF 015733-C, PF 020037, PF 020127, PF 023652, PF 030027 y PF 993118-B. El cultivar Anahuac fue sometido a inoculación solamente en el ensayo donde se utilizó Py 6030. En los dos ensayos se verificaron diferencias entre los genotipos en cuanto al área de la espiga afectada por la enfermedad, aunque la gran mayoría de esos genotipos ha demostrado alta susceptibilidad a la enfermedad. Todos los genotipos de trigo analizados demostraron resistencia a la enfermedad en las hojas bandera.

---

## Publicaciones

CRUZ, M.F.A.; PRESTES, A.M.; MACIEL, J.L.; SCHEEREN, P.L. 2010. (en prensa) Resistência parcial à brusone de genótipos de trigo comum e sintético nos estádios de planta jovem e adulta. Tropical Plant Pathology

CRUZ, M.F.A.; MACIEL, J.L.; PRESTES, A.M.; BOMBONATTO, E.; PEREIRA, J.F; CONSOLI, L .2010. (en prensa) Padrão molecular e de virulência de isolados de *Pyricularia grisea* do trigo. Tropical Plant Pathology

CRUZ, M.F.A.; MACIEL, J.L.; PRESTES, A.M.; SCHEEREN, P.L.; SILVA, M.S.2007. Resistência de genótipos de trigo à brusone e caracterização fenotípica de *Pyricularia grisea*. In Reunido da Comisado Brasileira de Pesquisa de Trigo e Criticale (1º.,2007, Londrina, Brasil).; Seminario Técnico de trigo (7º.,2007, Londrina, BR). p.

CRUZ, M.F.A.; PRESTES, A M.; MACIEL, J.L. Reação de genótipos de trigo à brusone em diferentes estádios de desenvolvimeto. In Reunião da Comissão Brasileira de Pesquisa de Trigo e Triticale (2º,2008, Passo Fundo, BR.). Anais. p.

CRUZ, M.F.A.; MACIEL, J.L.; PRESTES, A.M. Esporulação de *Pyricularia grisea* em diferentes meios de cultura em três regimes de luz. In In Reunião da Comissão Brasileira de Pesquisa de Trigo e Triticale (1º,2007, Londrina, BR).; Seminário Técnico de trigo (7º.,2007, Londrina, BR). p.