

# ANÁLISE DA EFICIÊNCIA DOS GENES DE RESISTÊNCIA À BRUSONE EM LINHAGENS MONOGÊNICAS DE ARROZ

Mainara Nunes Mainar<sup>1</sup>; Juan Santos da Silva<sup>2</sup>; Alef Ismael da Rosa<sup>3</sup>; Roberson Diego Souza Almeida<sup>4</sup>; Débora Favero<sup>5</sup>; Marcelo Gravina de Moraes<sup>6</sup>

Palavras-chave: *Pyricularia oryzae*, melhoramento genético, patogenicidade, doença.

## INTRODUÇÃO

O Brasil está entre os 15 maiores produtores mundiais de arroz, sendo o país com maior produção fora do continente asiático. Na safra 2020/21 a área semeada no país foi de 1,6 milhões de hectares, com uma produtividade média de 7,0 mil kg ha<sup>-1</sup> (CONAB, 2021).

O arroz é um dos alimentos básicos mais importantes, especialmente nos países em desenvolvimento. Os problemas mais desafiadores enfrentados pelos agricultores para a produção de arroz são as pragas e as doenças (SYAUQI et al., 2022). A brusone do arroz causada pelo fungo *Magnaporthe oryzae* (forma anamorfa *Pyricularia oryzae*) é uma das doenças mais devastadoras para a cultura (WANG et al., 2022), sua infecção pode manifestar-se em todas as fases de desenvolvimento da planta, podendo levá-la à morte. Suas lesões causam a diminuição da área fotossintética e a desuniformidade na formação de panículas, além do aumento da quantidade de espiguetas estéreis e da diminuição no rendimento de engenho (FILIPPI et al., 2015). A brusone da panícula é a forma mais severa da doença, tornando os grãos imperfeitos e enegrecidos, o que afetará diretamente o rendimento de grãos e a qualidade do arroz (YU et al., 2022).

A busca pela resistência à brusone é um dos principais objetivos dos programas de melhoramento de arroz nacionais e internacionais, tendo em vista que a resistência não é uma característica que se mantém. O cultivo sucessivo de uma mesma cultivar resistente pode elevar a pressão de seleção do patógeno, superando essa resistência (PRABHU et al., 2002). A utilização de variedades de arroz com múltiplos genes de resistência é o método mais importante para controlar a doença de forma econômica e ambientalmente sustentável (LI et al., 2022). Perante isso, este trabalho visa selecionar genes de interesse para serem utilizados no Programa de Melhoramento Genético do Instituto Rio Grandense do Arroz (IRGA), a fim de desenvolver novas cultivares que sejam resistentes à brusone.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido na casa de vegetação e no laboratório de fitopatologia na Estação Experimental do Instituto Rio Grandense do Arroz (EEA/IRGA) em Cachoeirinha/RS. Foram coletadas e analisadas 1048 amostras de plantas de arroz com sintomas característicos de brusone de todas as regiões orizícolas do Estado. Para a confirmação da doença, realizou-se o processo de diagnose nas amostras, onde foi verificada a ausência ou a presença de esporos de *M. oryzae*. Confirmando-

<sup>1</sup> Acadêmico de Agronomia / ULBRA, Seção de Melhoramento Genético/IRGA. Av. Bonifácio Carvalho Bernardes, 1494. Bairro João Carlos Wilkens, Cachoeirinha/RS. 94930-030 [mainara\\_nm@outlook.com](mailto:mainara_nm@outlook.com).

<sup>2</sup> Acadêmico de Zootecnia /UFRGS, [juan.s.santooss@gmail.com](mailto:juan.s.santooss@gmail.com).

<sup>3</sup> Acadêmico de Agronomia / ULBRA, [alefismael@hotmail.com](mailto:alefismael@hotmail.com).

<sup>4</sup> Eng<sup>o</sup>. Agr<sup>o</sup>, Mestrando em Fitotecnia/UFRGS, [robersonsalmeida@gmail.com](mailto:robersonsalmeida@gmail.com).

<sup>5</sup> Eng<sup>a</sup>. Agr<sup>a</sup>, Dr<sup>a</sup>, Seção de Melhoramento Genético/IRGA, [debora-favero@irga.rs.gov.br](mailto:debora-favero@irga.rs.gov.br).

<sup>6</sup> Eng. Agr. Dr. UFRGS, [mgm@ufrgs.br](mailto:mgm@ufrgs.br).

se a brusone, foi realizado o isolamento monospórico para a incubação em meio de cultura à base de FAA (farelo de aveia, água e ágar) para crescimento do fungo. Após, o fungo foi repicado e armazenado a  $-20^{\circ}\text{C}$  para utilização nas inoculações. Para a avaliação foram selecionadas 33 linhagens monogênicas (isolinhas) com 25 genes diferentes de resistência (genes R) conhecidos e uma testemunha suscetível (LTH) (Tabela 1).

Tabela 1. Conjunto de isolinhas de arroz selecionadas e seus respectivos genes de resistência (R), avaliadas na EEA/IRGA em Cachoeirinha/RS, da safra 2016/17 a 2021/22

Linhas Monogênicas	Gene R	Linhas Monogênicas	Gene R
IRBL-CL	Pi1	IRBLkm-Ts	Pik-m
IRBL11-Zh	Pi11(t)	IRBLkp-K60	Pik-p
IRBL12-M	Pi12(t)	IRBLks-F5	Pik-S
IRBL19-A	Pi19	IRBLks-S	Pik-S
IRBL20-IR24	Pi20	IRBLsh-S	Pish
IRBL3-CP4 (Gran Negro)	Pi3	IRBLsh-B	Pish
IR 83260-1-1-1-5-1-1-1	Pi40	IRBLt-K59	Pit
IR 83260-1-1-12-1-1-3-1-1		IRBLta-K1	Pita
IR 83260-1-1-1-3-2-1-3-1-1		IRBLta-CT2	
IRBL5-M	Pi5(t)	IRBLta-CP1	Pita2
IRBL7-M	Pi7(t)	IRBLta2-Pi	
IRBL9-W	Pi9	IRBLta2-Re	Piz
IRLa-A	Pia	IRBLz-Fu	
IRBLb-B	Pib	IRBLz5-CA	Piz5
IRBLI-F5	Pii	IRBLz5-CA-R-	
IRBLk-ka	Pik	IRBLzt-T	Piz-t
IRBLkh-K3	Pik-h	LTH	

O preparo da solução para a inoculação foi composto de água purificada, gelatina incolor e Polissorbato 20 (Tween 20). Essa solução é adicionada em placas de Petri contendo o isolado monospórico selecionado, onde se raspa com pincel esterilizado a superfície do meio de cultura contendo a colônia, obtendo-se, assim, uma solução com abundância de esporos. Para a inoculação, utiliza-se 20 mL dessa solução. Para quantificar a concentração de esporos é utilizada câmara de Neubauer e microscópio óptico.

A semeadura das sementes de arroz foi feita individualmente em tubetes de polipropileno atóxico de  $290\text{ cm}^3$  contendo substrato. Após 18 dias da semeadura de cada lote, com as plantas no estágio  $V_3$ , segundo a escala de Counce et al. (2000), efetuou-se a inoculação via aspersão, utilizando um compressor com pressão de 20 libras  $\text{pol}^{-2}$ , do isolado monospórico selecionado, para favorecer a infecção do patógeno. As plantas foram colocadas em câmara úmida com a umidade relativa do ar acima de 90% por um período de 24 horas antes da inoculação e 96 horas após.

Decorridos 10 dias da inoculação as plantas foram avaliadas quanto a sua reação à brusone, utilizando-se o Critério de Decisão de resistência à Brusone para as linhagens monogênicas (LTH), desenvolvido pelo Centro Internacional de Pesquisa Agrícola do Japão (JIRCAS, 2009) (Figura 1). A porcentagem de resistência das isolinhas à brusone é calculada pela frequência relativa.

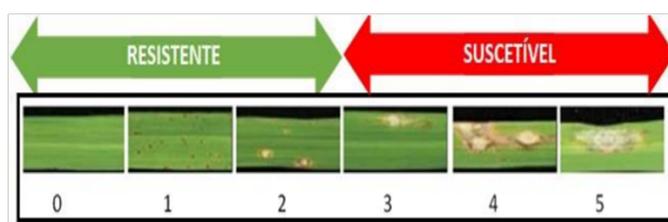


Figura 1. Escala para definição de resistência à brusone para linhagens monogênicas (JIRCAS, 2009).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante as seis safras (2016/17 a 2021/22) foram inoculados um total de 198 isolados de *M. oryzae*, coletados de diversas cultivares, no conjunto de isolinhas (Tabela 1). O resultado das avaliações mostra a eficiência dos genes de resistência (R) em relação à brusone (Figura 2), com destaque para os genes Piz5(t), Pi40 e Pii, que apresentaram uma porcentagem de resistência aos isolados acima de 90%. Diferentemente dos genes Pia, Pit e Pib, que apresentaram o menor desempenho nos critérios avaliados.

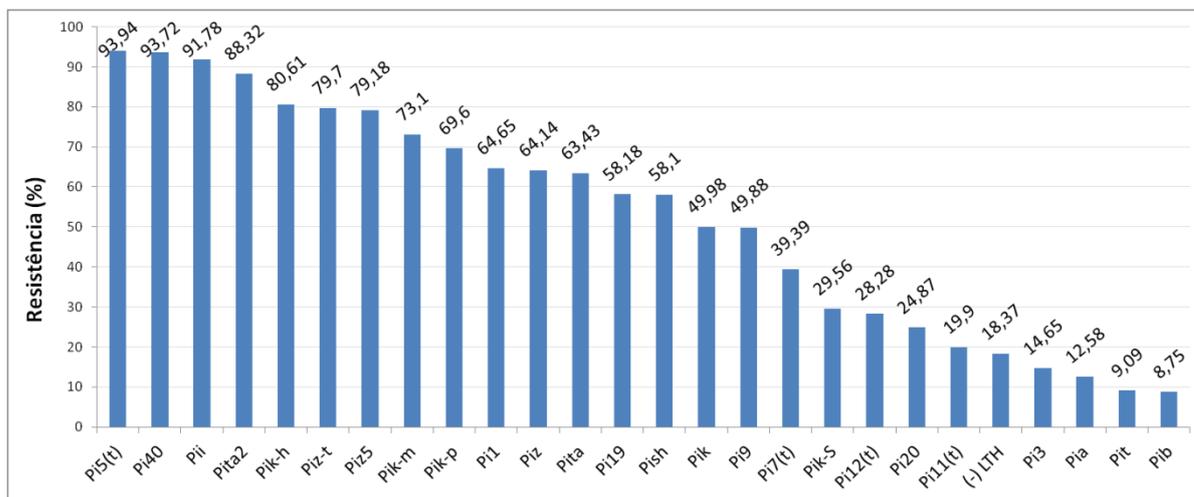


Figura 2. Porcentagem de resistência à brusone dos genes R, contidos no conjunto de isolinhas de arroz, inoculados e avaliados na EEA/IRGA, em seis safras (2016/17 a 2021/22).

Ao comparar os resultados de avaliações realizadas nas safras 2016/17 a 2018/19, com 125 inoculações, e os resultados obtidos até a safra atual (2021/22), onde foram efetuadas mais 73 inoculações, percebe-se que, no decorrer das últimas três safras, mais de 50% dos genes de resistência perderam eficiência contra a brusone. Genes como o Pita, Pik e Pi9 reduziram em mais de 10% seu desempenho. Por outro lado, os genes Pii, Pik-p, Piz, Pi19, Pi7(t) e Pi11(t), melhoraram sua eficácia, com destaque para o gene Pi19 com mais de 30%.

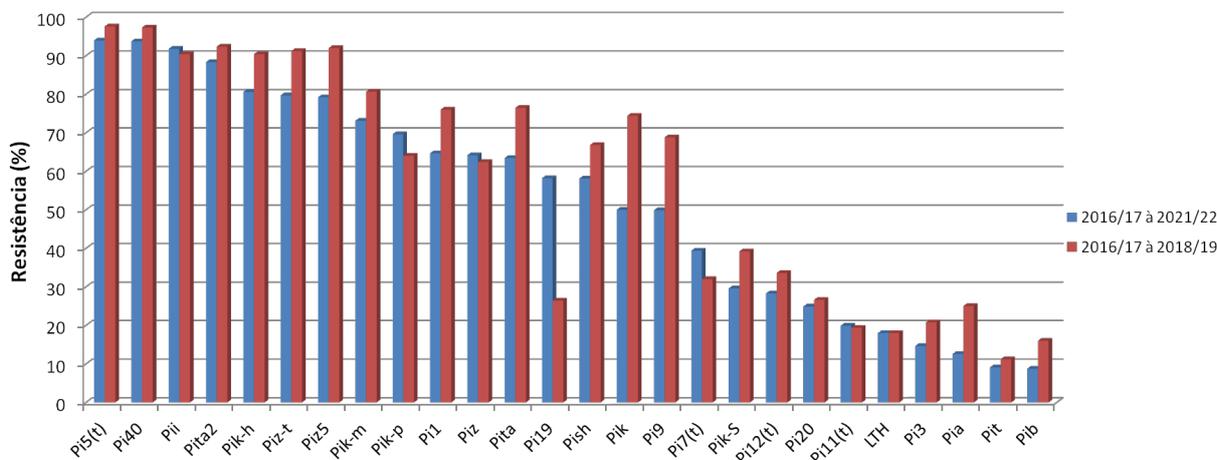


Figura 3. Gráfico comparativo dos resultados de porcentagem de resistência à brusone dos genes R, contidos no conjunto de isolinhas de arroz, obtidos nas avaliações realizadas nas safras 2016/17 a 2021/22 e 2016/17 a 2018/19, na EEA/IRGA em Cachoeirinha/RS.

## CONCLUSÃO

A partir da observação dos aspectos analisados, conclui-se que os genes de resistência à brusone podem ter uma possível perda gradativa de sua eficiência, uma vez que o fungo causador (*M. oryzae*) evoluiu e muda sua característica de virulência no decorrer das safras. Apesar da redução no seu percentual de resistência nas últimas safras, os genes Piz(t), Pi40 e Pii ainda podem ser utilizados em cruzamentos, como fontes de resistência, gerando novas cultivares.

## AGRADECIMENTOS

Aos técnicos de campo do IRGA que auxiliaram no envio de amostras de plantas infectadas com *M. oryzae*, aos colegas do laboratório de fitopatologia que efetuaram a metodologia do projeto e aos demais servidores da Estação Experimental do Arroz que contribuíram para a realização deste trabalho.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CONAB. Safras – Arroz Total (Irrigado e Sequeiro) 2021/22. Disponível em: [shttps://www.conab.gov.br/info-agro/safras/serie-historica-das-safras/itemlist/category/900-arroz](https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/serie-historica-das-safras/itemlist/category/900-arroz). Acesso em: jun 2022.
- COUNCE, P.; KEISLING, T. C.; MITCHELL, A. J. A uniform, objective, and adaptive system for expressing rice development. **Crop Science**, Madison, v.40, n.2, p.436-443, 2000.
- DE FILIPPI, M.C.C. et al. **Brusone no arroz**. Embrapa Arroz e Feijão-Folder/Folheto/Cartilha (INFOTECA-E), 2015.
- FUKUTA, Y., et al. Genetic characterization of universal differential varieties for blast resistance developed under the IRRI-Japan Collaborative Research Project using DNA markers in rice (*Oryza sativa* L.). **JIRCAS Working Report**, v. 63, p. 35-68, 2009.
- LI, J. et al. Insertion of transposable elements in AVR-Pib of *Magnaporthe oryzae*. Preprint. **Research square**. Disponível em: <https://www.researchsquare.com/article/rs-1440283/v1>. Acesso em: jun 2022.
- PRABHU, A.S. et al. **Manejo da Brusone no Arroz de Terras Altas**. Circular Técnica 52, Embrapa, Santo Antônio de Goiás/GO, 2002.
- SYAUQI, J. et al. Surveillance of Rice Blast Resistance Effectiveness and Emerging Virulent Isolates in Taiwan. **Plant Disease**, 2022.
- YU, Y. et al. Genome-Wide Association Study Identifies a Rice Panicle Blast Resistance Gene, Pb2, Encoding NLR Protein. **International Journal of Molecular Sciences**, v.23, 5668, 2022.
- WANG, F. et al. Breeding early maturing, blast resistance watersaving and drought-resistance rice cultivar using marker-assisted selection coupled with rapid generation advance. **Research Square**, 2022.