

PROSPECÇÃO DE GENES DE RESISTÊNCIA À BRUSONE EM LINHAGENS ISOGÊNICAS DE ARROZ

Roberson Diego Souza Almeida¹; Gabriela de Magalhães da Fonseca²; Débora Favero³; Danielle Almeida⁴; Solismar Rodrigues Luz⁵; Taiane Freitas Tomazi⁶; Marcelo Gravina de Moraes⁷.

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

INTRODUÇÃO

A brusone em arroz é reconhecida como a maior limitadora de produtividade da cultura, principalmente em regiões tropicais (PRABHU & FILIPPI, 2006). Causada pelo fungo *Magnaporthe oryzae* (forma telemórfica do fungo *Pyricularia oryzae*), pode ocorrer tanto no estágio vegetativo quanto no reprodutivo da planta. Entre os danos causados, destaca-se a diminuição da área fotossintética e da uniformidade na emissão de panículas, aumento da quantidade de espiguetas estéreis e redução do rendimento de engenho (FILIPPI et al., 2015). Entre as estratégias de controle, destacam-se as boas práticas de manejo, utilização de cultivares resistentes e o controle químico.

De acordo com Prabhu et al. (2001), no manejo integrado do controle da brusone, a resistência da cultivar é o principal fator. O desenvolvimento de uma nova cultivar resistente deve partir da utilização de cruzamentos com fontes de resistência conhecida, avaliadas quanto a sua reação a uma grande variabilidade de *P. oryzae*. Diante disso, o objetivo deste trabalho é prospectar genes de interesse para serem utilizados no programa de melhoramento genético do Instituto Rio Grandense do Arroz (IRGA), buscando desenvolver novas cultivares resistentes à brusone para o Estado do Rio Grande do Sul.

MATERIAL E MÉTODOS

O projeto foi conduzido em casa de vegetação na estação de pesquisa do IRGA em Cachoeirinha/RS, e no laboratório de fitopatologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Foram coletadas amostras de plantas de arroz com sintomas de brusone em todas as regiões orizícolas do Estado. Essas amostras foram coletadas pelas equipes regionais do IRGA e também pela equipe de pesquisa da estação. Após confirmação, via diagnose, da presença de *P. oryzae*, realizou-se o isolamento monospórico e posterior crescimento em meio de cultura desse isolado, que foi repicado e armazenado para posterior inoculação. Selecionou-se para a avaliação da reação à brusone, um conjunto de 34 linhagens isogênicas (isolinhas) com 25 genes de resistência conhecidos, e uma testemunha controle, suscetível à doença (LTH) (Quadro 1).

As sementes foram semeadas individualmente em copos plásticos de 700 mL contendo substrato. A inoculação do isolado monospórico ocorreu 18 dias após a semeadura, no estágio V3 das plantas. Essas permaneceram em câmara úmida com umidade relativa acima de 90 % durante 24 horas antes e 96 horas após a inoculação. O isolado de *P. oryzae* a ser inoculado foi previamente incubado em placas com meio de cultura contendo farelo de aveia, ágar e água. Para a inoculação acrescentou-se solução a base de gelatina incolor, Tween e água nas placas, que

¹ Acadêmico de Agronomia /Universidade Luterana Do Brasil (ULBRA), Canoas, RS. CEP 92425-900, e-mail: roberson-diprorama@outlook.com.

² Eng^a. Agr., Dra./IRGA, e-mail: gabriela-fonseca@irga.rs.gov.br.

³ Eng^a. Agr., Me./IRGA, e-mail: debora-favero@irga.rs.gov.br.

⁴ Eng^a. Agr., Dra./IRGA, e-mail: danielle-almeida@irga.rs.gov.br.

⁵ Tec. Agric./IRGA, e-mail: solismar@irga.rs.gov.br.

⁶ Tec. Agric./IRGA, e-mail: taiane-tomazi@irga.rs.gov.br.

⁷ Eng. Agr. Dr./UFRGS, e-mail: mgm@ufrgs.br.

foram posteriormente raspadas com pincel esterilizado obtendo-se uma solução rica em esporos. Com o auxílio de microscópio e câmara de Neubauer realizou-se a contagem e o ajuste da concentração de esporos por mL, utilizou-se para as inoculações, 20 mL de solução com concentrações entre 3 e 8×10^4 esporos/mL. A inoculação foi via aspersão, utilizando compressor ajustado a 20 libras/pol².

Quadro 1. Isolinhas e seus respectivos genes, avaliadas na Estação de Pesquisa do IRGA em Cachoeirinha/RS, nas safras 2016/17, 2017/18 e 2018/19.

Linhagens Isogênicas	Gene	Linhagens Isogênicas	Gene
IRBL1-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	
IRBL20-IR24	Pi20	IRBLsh-S	Pish
IRBL3-CP4(Gran Negro)	Pi3	IRBLsh-B	
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	
IRLa-C		IRBLz5-CA	Piz5
IRBLb-B	Pib	IRBLz5-CA-R-	
IRBLi-F5	Pii	IRBLzt-T	Piz-t
IRBLk-ka	Pik	LTH	-
IRBLkh-K3	Pik-h		

A avaliação das plantas ocorreu dez dias após a inoculação e foi baseada no critério de decisão de resistência à brusone para linhas monogênicas (LTH), em escala desenvolvida pelo Centro Internacional de Pesquisa Agrícola do Japão (JIRCAS, 2009) (Figura 1). O percentual de resistência das isolinhas foi determinado pela frequência relativa.

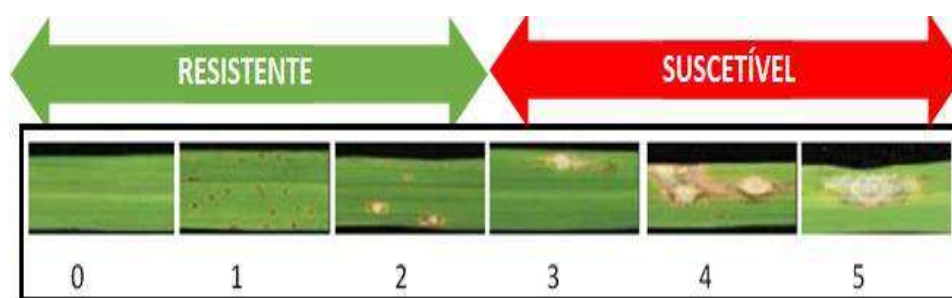


Figura 1. Escala de resistência à brusone para linhagens monogênicas (JIRCAS, 2009).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Entre as safras de 2016/17 e 2018/19 foram inoculados 125 isolados de *P. oryzae* nas isolinhas (Quadro 1). Entre esses isolados, sete foram obtidos a partir de amostras coletadas nas cultivares IRGA 424 e IRGA 424 RI, que até a safra 2017/18 eram caracterizadas como resistentes (coletas realizadas na safra 2018/19).

Analisando o percentual de resistência das isolinhas frente a todos os isolados obtidos

(população total), as isolinhas que continham os genes Pi5(t), Pi40, Pita2, Piz5, Piz-t, Pii e Pik-h, tiveram boa resposta de reação à doença, apresentando resistência a 90 % ou mais dos isolados testados, destacando-se as isolinhas com os genes Pi5(t) e Pi40 que obtiveram 98 e 97 % de resistência, respectivamente (Figura 2).

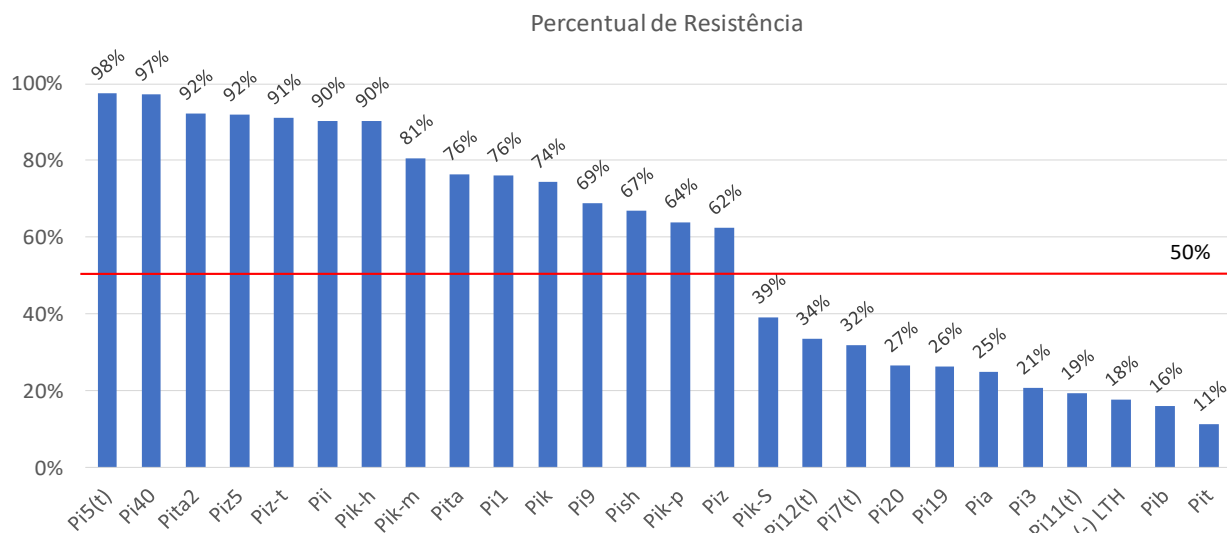


Figura 2. Percentual de resistência de cada gene avaliado na população total de isolados, inoculados na estação de pesquisa do IRGA em Cachoeirinha/RS, safras 2016/17, 2017/18 e 2018/19.

As avaliações nas isolinhas, onde as fontes de inóculo foram as cultivares IRGA 424 e IRGA 424 RI, até então resistentes, mostraram que 16 genes não obtiveram boa resposta de reação à doença, sendo suscetíveis a mais de 56 % dos inóculos. Por outro lado, as isolinhas contendo os genes Pi5(t), Pi9, Pii e Pita2, foram 100 % resistentes (Figura 3).

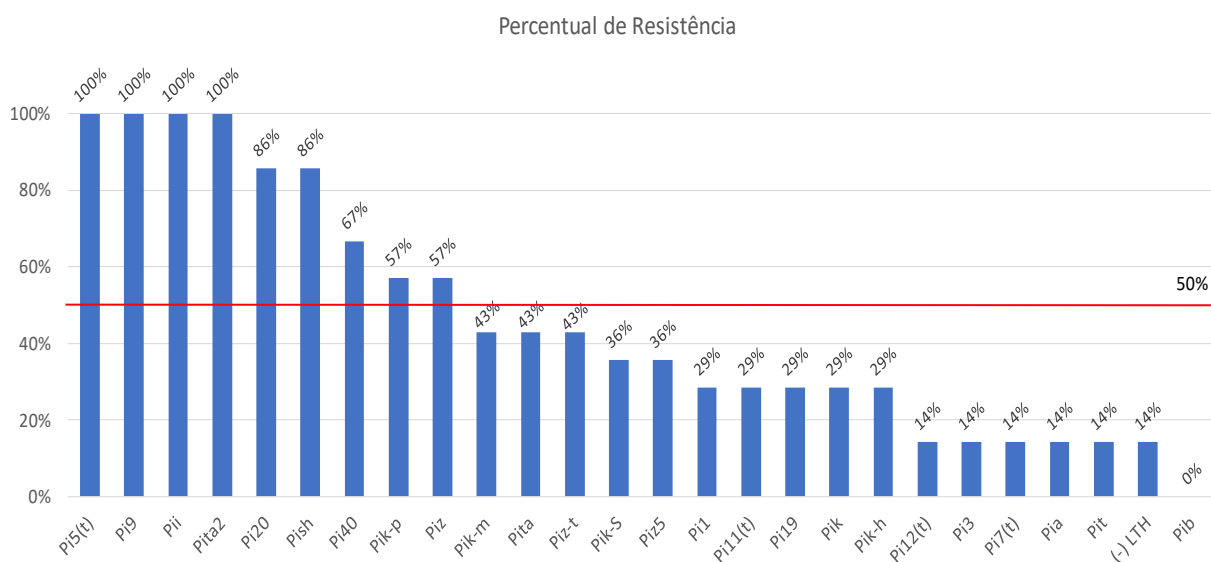


Figura 3. Percentual de resistência de cada gene avaliado na população de isolados retirados das cultivares IRGA 424 e IRGA 424 RI. Inoculados na estação de pesquisa do IRGA em Cachoeirinha/RS, safra 2018/19.

Houve variabilidade de reação conforme a fonte de inóculo. As isolinhas contendo os genes Pi5(t), Pi40, Pita2, Piz5, Piz-t, Pii e Pik-h, quando avaliadas frente à população total de isolados, obtiveram 90 % ou mais de resistência e mantiveram boa resposta de reação quando testadas com os isolados de IRGA 424 e IRGA 424 RI, sendo as isolinhas com os genes Pi5(t), Pita2 e Pii 100% resistentes a esses isolados (Figuras 2 e 3). As isolinhas que continham o gene Piz5, foram resistentes a 92 % dos isolados da população total (Figura 2) e, suscetíveis a 64 % dos isolados obtidos de IRGA 424 e IRGA 424 RI. A isolinha com o gene Pi9 apresentou 69 % de resistência na população total, foi 100 % resistente aos isolados de IRGA 424 e IRGA 424 RI (Figura 3). A isolinha com o gene Pi5(t) apresentou 98 % de resistência na população total de isolados e 100 % nos isolados de IRGA 424 e IRGA 424 RI (Figuras 2 e 3), sendo esse gene associado a um *locus* que confere amplo espectro de resistência a diversos isolados de *P. oryzae* (JEON et al., 2003).

CONCLUSÃO

As isolinhas que contêm os genes Pi5(t), Pita2 e Pii foram resistentes em 90 % ou mais a todos os isolados testados, podendo essas serem utilizadas em cruzamentos para desenvolver novas cultivares resistentes no Estado do Rio Grande do Sul.

AGRADECIMENTOS

Aos servidores do IRGA lotados nos escritórios regionais do Instituto, pela colaboração no envio das amostras de plantas infectadas com brusone, para a realização de coletas de isolados de *P. oryzae*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

PRABHU, Anne Sitarama; FILIPPI, MCC de. **Brusone em arroz: controle genético, progresso e perspectivas**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2006.

DE FILIPPI, Marta Cristina Corsi et al. Brusone no arroz. **Embrapa Arroz e Feijão-Fôlder/Folheto/Cartilha (INFOTECA-E)**, 2015.

PRABHU, Anne Sitarama; FILIPPI, Marta Cristina. Graus de resistência à brusone e produtividade de cultivares melhoradas de arroz de terras altas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 12, p. 1453-1459, 2001.

FUKUTA, Yoshimichi; CRUZ, Casiana M. Vera; KOBAYASHI, Nobuya (Ed.). **Development and characterization of blast resistance using differential varieties in rice**. International Research Center for Agricultural Sciences, 2009.

JEON, J.-S. et al. Genetic and physical mapping of Pi5 (t), a locus associated with broad-spectrum resistance to rice blast. **Molecular Genetics and Genomics**, v. 269, n. 2, p. 280-289, 2003.