

# NOTAS CIENTÍFICAS

## Variabilidade patogênica do fungo *Pyricularia grisea* no Estado de São Paulo

Vanda Maria Angeli Malavolta, Aline de Paula Carqueijo<sup>1,2</sup>, Livia Mendes<sup>1,3</sup>

Instituto Agronômico/APTA, C.P. 28, Campinas, SP, CEP 13012-970, e-mail: vanda@iac.sp.gov.br; <sup>1</sup>Estudante de Biologia, PUC-Campinas. <sup>2</sup>Bolsista da FUNDAP. <sup>3</sup>Bolsista CNPq. Trabalho parcialmente financiado pela FAPESP.

Autor para correspondência: Vanda Maria Angeli Malavolta.

Data de chegada: 19/04/2007. Aceito para publicação em: 14/01/2008.

1480

### RESUMO

Malavolta, V.M.A.; Carqueijo, A.P.; Mendes, L. Variabilidade patogênica do fungo *Pyricularia grisea* no Estado de São Paulo. *Summa Phytopathologica*, v.35, n.1, p.49-51, 2009

Amostras de arroz com sintomas de brusone foram coletadas no período 2004-06 em diferentes regiões produtoras do Estado de São Paulo. Foram obtidos 71 isolados monospóricos do fungo *P. grisea*, e para a caracterização da variabilidade patogênica desses isolados foram utilizadas as séries diferenciadoras internacional e japonesa. Segundo a série internacional, os 71 isolados foram agrupados em 21 patótipos. Predominaram raças dos grupos IB, ID e IG, com 23, 21 e 17 constatações respectivamente. A variedade Raminad Str.3 apresentou os genes de resistência mais efetivos, não suplantados por nenhum dos isolados testados, seguida da NP 125

(5,6% de reações suscetíveis) e Dular (11,3 %). Por outro lado, a resistência da variedade Sha-tiao-tsao foi suplantada pela maioria dos isolados (90,1 % de reações suscetíveis), seguida da Usen (62,0%) e da Caloro (53,5 %). Pela série japonesa, os isolados foram agrupados em 36 patótipos, e a análise do espectro de virulência dos isolados mostra que nenhum dos isolados teve a capacidade de suplantar a resistência conferida pelo gene *pi-ta*<sup>2</sup> e somente 1 isolado a do gene *pi-z*<sup>1</sup>. Por outro lado, 63,4 % dos isolados conseguiram causar sintomas em plantas com o gene *pi-a*, 59,1% com o gene *pi-ta* e 53,5 % com o gene *pi-i*.

**Palavras-chave adicionais:** brusone, raças fisiológicas, genes de resistência, *Oryza sativa*.

### ABSTRACT

Malavolta, V.M.A.; Carqueijo, A.P.; Mendes, L. Pathogenic variability of *Pyricularia grisea* in the State of São Paulo, Brazil. *Summa Phytopathologica*, v.35, n.1, p.49-51, 2009

Blast samples were collected during 2004-2006 in different rice growing regions in São Paulo State, Brazil. The 71 monosporic isolates of *Pyricularia grisea* obtained were grouped into physiologic races based on the reaction type on a set of eight international and nine Japanese differentials. Twenty-one pathotypes were identified among the 71 blast isolates according to the international set. The IB, ID and IG groups were most frequently detected (23, 21 and 17 times each, respectively). The virulence frequency of isolates to the genes

in the international differentials varied from 0 (Raminad Str.3 variety) to 90.1 % (Sha-tiao-tsao). Based on the reaction of Japanese differential set, 36 pathotypes or races were identified. None of the 71 isolates were capable of overcome the resistance of the gene *pi-ta*<sup>2</sup>, and only one isolate the resistance gene *pi-z*<sup>1</sup>. On the other hand, 63.4%, 59.1% and 53.5% among these isolates were virulent respectively on varieties Aichi Asahi (gene *pi-a*), Yashiro-mochi (gene *pi-ta*) and Ishikari-shiroke (gene *pi-i*).

**Keywords:** blast, physiologic races, resistance genes, *Oryza sativa*.

A brusone, principal doença do arroz, é causada pelo fungo *Pyricularia grisea* (Cooke) Saccardo [teleomorfo *Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr], microrganismo que apresenta alta variabilidade patogênica, com existência de grande número de raças fisiológicas. A utilização de cultivares resistentes é o método ideal de controle da doença, porém a alta variabilidade e natureza complexa do patógeno tem dificultado a obtenção de cultivares com resistência durável, que perdure mais que 2-4 anos. Diversas séries diferenciais têm sido empregadas nos estudos de caracterização de patótipos do fungo, sendo a primeira e mais utilizada até hoje a série diferenciadora internacional (2). A caracterização das raças fisiológicas de *P. grisea* ocorrentes em determinada região é essencial para entender a dinâmica da virulência do fungo e de grande importância para orientação dos trabalhos de melhoramento, possibilitando adoção de estratégias adequadas para aumentar a durabilidade da resistência à brusone. Visando fornecer

subsídios ao Programa de Melhoramento de Arroz do Instituto Agronômico, o objetivo desse trabalho foi realizar um levantamento das raças fisiológicas ocorrentes no Estado de São Paulo.

Foram coletadas plantas de arroz com sintomas de brusone, tanto nas folhas como panículas, nos anos agrícolas 2004/05 e 2005/06, em cultivos comerciais e em infectários de brusone, procurando abranger grande diversidade de municípios e cultivares, dentre as áreas produtoras. Essas plantas coletadas, após secagem, foram mantidas em geladeira, embaladas em sacos de papel e depois em plástico. Foram obtidos 71 isolados monospóricos de *P. grisea*, e como o trabalho foi realizado escalonadamente, à medida que os isolados iam sendo obtidos procedia-se imediatamente às fases de preparo de inóculo, plantio de variedades diferenciais, inoculação e avaliação dos sintomas nas plantas.

Para o preparo de inóculo foi utilizado meio constituído por 15 g

de farelo de arroz, 15 g de aveia em flocos finos, 5 g dextrose, 20 g ágar, água destilada qsp 1000 mL, determinado em ensaio prévio como um bom indutor de esporulação(6). Os isolados foram transferidos para placas de Petri contendo esse meio, e incubadas por 15 dias à temperatura de 27°C e 12 h de alternância de luz fluorescente/escuro. Após esse período cada placa recebeu 3mL de água destilada estéril, e teve seu micélio aéreo retirado com o auxílio de uma alça de Drigalski, sendo então transferidas para luz negra (NUV) contínua, à mesma temperatura de 27°C, por 7 dias.

A semeadura das variedades diferenciais foi realizada em solo com alto teor de matéria orgânica, contido em caixas plásticas com dimensões de 42x28x12 cm (CxLxA), utilizando-se 10 sementes por variedade. As plantas foram mantidas em casa de vegetação por 15-20 dias, até o estádio de 3-4 folhas, quando foram inoculadas. Foram utilizadas 2 séries de cultivares diferenciais. A série internacional, proposta por Atkins *et al.* (2), é composta por 8 variedades: Raminad Str.3, Zenith, NP 125, Usen, Dular, Kanto 51, Sha-tiao-tsaio e Caloro. A série japonesa, proposta por Yamada *et al.*(9), é constituída por 9 variedades, cada uma com somente 1 gene vertical de resistência à *P. grisea*. Essas variedades e seus respectivos genes são: Shin 2 (*pi-k<sup>+</sup>*), Aichi Asahi (*pi-a*), Ishikari-shiroke (*pi-i*), Kanto51 (*pi-k*), Tsuyuaque (*pi-k<sup>m</sup>*), Fukunishiki (*pi-z*), Yashiro-mochi (*pi-ta*), Pi n°4 (*pi-ta<sup>2</sup>*) e Toride1 (*pi-z'*).

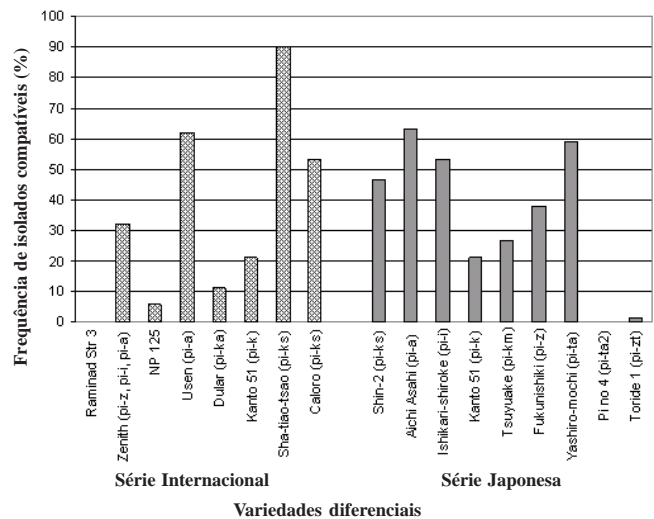
A inoculação das plantas foi realizada com o auxílio de um compressor (pressão de 1kgf/cm<sup>2</sup>), empregando-se suspensão de conídios padronizada quanto ao volume (50 mL por caixa) e concentração (ordem de 10<sup>4</sup> conídios/mL). A concentração foi aferida utilizando-se hemocítmetro. Foi acrescentado à suspensão de conídios o espalhante-adesivo Tween 20, na proporção de 0,02%. Após as inoculações, as plantas foram mantidas em câmara com temperatura, umidade e luminosidade controladas.

A avaliação das plantas foi realizada aos 8-10 dias após a inoculação, levando-se em consideração somente dois tipos de reação das plantas, compatível ou suscetível, e incompatível ou resistente. De acordo com a escala de notas de 0-9 proposta para avaliação pelo International Rice Research Institute (3), os tipos de infecção 1 a 3 foram considerados como resistentes, e 4 a 9 como suscetíveis. Em casos de reação duvidosa, a inoculação foi repetida de forma a se obter resultados seguros. A identificação das raças através da série internacional foi feita comparando-se os resultados obtidos na inoculação com tabela contendo todas as 256 combinações possíveis com as 8 cultivares diferenciadoras internacionais, e classificação da raça como pertencente a um grupo e número específico às reações apresentadas (2). A identificação das raças através da série japonesa seguiu o sistema de número de código das cultivares diferenciais, correspondente a cada gene de resistência vertical, sendo cada raça denominada pelo número da soma de códigos das cultivares às quais o isolado foi virulento (9).

### Série Diferencial Internacional

Foram identificados por essa série diferenciadora 21 patótipos (Quadro 1) dentre os 71 isolados obtidos no período, evidenciando o alto número de raças fisiológicas frente ao número de isolados. Houve predominância de raças dos grupos IB (com 12 raças e 23 constatações), ID (3 raças e 21 constatações) e IG (2 raças e 17 constatações).

Observou-se ocorrência de diversas raças em um mesmo município, e de uma mesma raça tanto em regiões próximas como em regiões distintas do Estado. As raças mais complexas, isto é, com maior espectro de virulência, foram IB-9, IB-33, IB-34, IB-37 e IB-41 ocorrentes nos municípios de Campinas, Capão Bonito, Mococa, Pindamonhangaba, Pindorama, Tremembé e Votuporanga. Essas raças



**Figura 1.** Frequência de isolados de *Pyricularia grisea* compatíveis às variedades diferenciadoras das séries internacional e japonesa, coletados no Estado de São Paulo nos anos agrícolas 2004/05 e 2005/06.

foram capazes de suplantar a resistência de seis variedades diferenciais (IB-9 e IB-33) ou cinco (IB-34, IB-37 e IB-41). A constatação dessas raças com largo espectro de virulência sugere que genes de virulência estão sendo acumulados nesses patótipos.

A frequência de isolados virulentos às variedades diferenciais está apresentada na Figura 1. A variedade Raminad Str.3 apresentou os genes de resistência mais efetivos contra os isolados ocorrentes na região, não suplantados por nenhum dos isolados testados, seguida de NP 125 (somente 5,6% de reações suscetíveis), e Dular (11,3%). Por outro lado, a resistência da variedade Sha-tiao-tsaio foi suplantada pela maioria dos isolados (90,1% de reações suscetíveis), seguido da Usen (62%) e da Caloro (53,5%).

Com relação às cultivares de origem dos isolados, observou-se que o maior número de raças, totalizando 12 diferentes patótipos, foi identificado dentre os isolados procedentes da EPAGRI 109, demonstrando a adaptação do patógeno a essa cultivar que tem sido extensa e predominantemente cultivada no Vale do Paraíba nos últimos anos.

Dentre os 21 patótipos identificados, somente cinco – IB-33, IB 41, ID-13, IG-2 e II-1, haviam sido constatados em levantamentos anteriores realizados no Estado de São Paulo (1, 5). A prevalência de raças do grupo IB e IG e a baixa frequência do grupo II observadas neste trabalho, foram também relatadas recentemente no Estado de Santa Catarina (4, 7).

### Série Diferencial Japonesa

Dentre os 71 isolados monospóricos obtidos, 63 foram agrupados em 36 patótipos através dessa série diferencial. Os demais 8 isolados obtidos não foram identificados, uma vez que provocaram reação de resistência em todas as nove cultivares diferenciais. Houve discreta prevalência das raças 147 (com 5 constatações), 143 (4 constatações), seguida das raças 6, 47, 100, 107 e 137, com 3 constatações (Quadro 1).

Essa alta variabilidade foi anteriormente observada por Urashima (8), que usando essa mesma série diferencial identificou 32 diferentes raças dentre 35 isolados obtidos no município de Tremembé. Dentre essas 32 raças identificadas em 2002, continuam ocorrendo no Vale do Paraíba as raças 1, 3 e 177.

As raças mais complexas, capazes de suplantar o maior número de genes de resistência, foram a 177, ocorrente em Pindamonhangaba,

**Quadro 1.** Raças fisiológicas de *Pyricularia grisea* identificadas no Estado de São Paulo nos anos agrícolas 2004-05 e 2005-06, segundo as séries diferenciais internacional e japonesa.

	Raça fisiológica	Número de isolados	Município de ocorrência	Cultivar de origem
<b>Série Diferencial Internacional</b>	IB-09	1	Tremembé	Epagri 109
	IB-33	4	Campinas, Pindorama	Conai, IAC 103, IAC 201, IAC 500
	IB-34	1	Votuporanga	IAC 202
	IB-37	1	Tremembé	Epagri 109
	IB-38	1	Canas	Epagri 109
	IB-41	5	Capão Bonito, Mococa, Pindamonhangaba/Pindorama	Conai, Epagri 109, IAC 201, IAC 202, IAC 600
	IB-45	4	Canas, Guaratinguetá, Lorena, Pindamonhangaba	Epagri 109, IAC 400
	IB-46	2	Pindamonhangaba, Roseira	Epagri 109, IAC 400
	IB-48	1	Pindamonhangaba	IAC 103
	IB-50	1	Pindorama	Conai
	IB-61	1	Pindorama	IAC 202
	IB-64	1	Tremembé	Epagri 109
	IC-13	1	Çaapava	IAC 101
	IC-14	2	Guaratinguetá, Roseira	Epagri 109
	ID-09	1	Pindorama	IAC 201
	ID-13	9	Canas, Guaratinguetá, Lorena, Pariquera-Açú, Pindamonhangaba, Pindorama, Taubaté	Conai, Epagri 109, Epagri 112, Epagri 113, IAC 202, IAC 899
	ID-14	1 1	Canas, Capão Bonito, Pindamonhangaba, Roseira, Taubaté, Tremembé	Epagri 109, Epagri 11, IAC 1780, IAC 201
	IF-1	2	Pindamonhangaba, Pindorama	IAC 103, IAC 201
	IG-1	9	Çaapava, Capão Bonito, Roseira, Taubaté, Tremembé	Epagri 108, Epagri 109, Epagri 113, IAC 202, IAC 400
	IG-2	8	Guaratinguetá, Pariquera-Açú, Pindamonhangaba, Pindorama, Roseira, Tremembé	Epagri 109, Epagri 113, IAC 400, Volano
II-1	5	Capão Bonito, Pariquera-Açú, Taubaté	Conai, Epagri 113, IAC 400, Volano	
<b>Série Diferencial Japonesa</b>	1	2	Capão Bonito, Taubaté	Epagri 109, IAC 201
	2	1	Roseira	Epagri 109
	3	2	Lorena, Tremembé	Epagri 109, Epagri 113
	4	2	Canas, Tremembé	Epagri 112
	5	1	Capão Bonito	IAC 400
	6	3	Pindamonhangaba, Taubaté	Epagri 109, IAC 1780
	20	1	Pariquera-Açú	Volano
	22	1	Capão Bonito	IAC 202
	40	1	Guaratinguetá	Epagri 109
	44	2	Çaapava, Roseira	Epagri 109, Epagri 113
	46	2	Canas, Pindamonhangaba	Epagri 113
	47	3	Lorena, Pindamonhangaba	Epagri 109, IAC 400
	100	3	Guaratinguetá, Roseira, Tremembé	Epagri 109, Epagri 112, Epagri 113
	101	1	Taubaté	Epagri 109
	102	1	Pariquera-Açú	IAC 899
	105	1	Capão Bonito	IAC 400
	107	3	Guaratinguetá, Pindamonhangaba, Taubaté	Epagri 109, Epagri 113
	112	1	Pindamonhangaba	IAC 201
	117	2	Pindorama	IAC 103, IAC 201
	120	1	Pindorama	IAC 400
	122	2	Pariquera-Açú, Pindorama	Conai, IAC 202
	127	1	Pindamonhangaba	IAC 400
	132	1	Pindorama	Conai
	134	1	Pindorama	Conai
	136	2	Pindorama, Votuporanga	IAC 202, IAC 600
	137	3	Campinas, Mococa, Pindorama	IAC 201, IAC 202, IAC 500
	140	1	Canas	Epagri 109
	143	4	Çaapava, Roseira, Taubaté	Epagri 109, Epagri 113, IAC 101
	147	5	Guaratinguetá, Pindamonhangaba, Tremembé	Epagri 109, Epagri 113
	153	1	Capão Bonito	IAC 201
	157	1	Tremembé	Epagri 109
	161	1	Tremembé	Epagri 108
	166	2	Pindamonhangaba, Pindorama	IAC 103, IAC 202
	176	2	Capão Bonito, Pindorama	Conai, IAC 103
177	1	Pindamonhangaba	Epagri 109	
547	1	Taubaté	Epagri 109	
não identificada*	8	Canas, Capão Bonito, Pariquera-Açú, Roseira, Taubaté, Tremembé	Conai, Epagri 109, Epagri 113, IAC 400, Volano	

\* Não identificada = reação de resistência em todas as nove variedades diferenciais japonesas.

virulenta à 7 variedades; 137, 157, 176 e 547, ocorrentes em Campinas, Capão Bonito Mococa, Pindorama, Taubaté e Tremembé, virulenta à 6 variedades. Da mesma forma que constatado com a outra série diferencial, observou-se que o maior número de raças foi identificado dentre os isolados procedentes da EPAGRI 109, totalizando 17 diferentes patótipos.

A análise do espectro de virulência dos isolados obtidos (Figura 1) mostrou que nenhum dos isolados teve a capacidade de suplantar a resistência conferida pelo gene *Pi-ta<sup>2</sup>* e somente 1 isolado a do gene *Pi-z'*. Por outro lado, 63,4% dos isolados conseguiram causar sintomas em plantas com o gene *Pi-a*, 59,1% com o gene *Pi-ta* e 53,5% com o gene *Pi-i*.

Os resultados do presente trabalho permitem concluir que as raças mais complexas em relação às cultivares atualmente em uso podem ser utilizadas para testes de seleção de germoplasma de arroz resistente à brusone em condições de casa de vegetação, e que a introdução de cultivares com os genes de resistência *Pi-ta<sup>2</sup>* e *Pi-z'* pode ser bastante útil para o controle da brusone no Estado de São Paulo.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Amaral, R.E.M.; Souza, D.M.; Malavolta, V.M.A.; Issa, E. Raças fisiológicas de *Pyricularia oryzae* Cav. no Estado de São Paulo. **Biológico**, São Paulo, v. 45, n. 11/12, p. 205-208, 1979.
2. Atkins, J.G.; Robert, A.L.; Addair, C.R.; Goto, K.; Kozaka, T.; Yanagida, R.; Yamada, M.; Matsumoto, S. An international set of rice varieties for differentiating races of *Pyricularia oryzae*. **Phytopathology**, Worcester, v. 57, p. 297-301, 1967.
3. International Rice Research Institute / IRRI. **Standard Evaluation System for Rice**. Manila, 2002. 54p.
4. Krieger, I.; Silva, C.M.; Miura, L. Determinação de raças fisiológicas de *Pyricularia grisea* em experimento de resistência horizontal à brusone. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, supl., p. 271, 2004.
5. Malavolta, V.M.A.; Souza, T.M.W. Variabilidade de *Pyricularia oryzae* no Estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v.18, n. 3/4, p. 287-290, 1992.
6. Mendes, L.; Carqueijo, A.P.; Malavolta, V.M.A. Avaliação da esporulação de *Pyricularia grisea* em diferentes meios de cultura. In: Congresso Paulista De Fitopatologia, **29.**, Botucatu, 2006. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 32, supl., p. 53, 2006.
7. Silva, C.M.; Krieger, I.; Miura, L. Prevalência de raças fisiológicas de *Pyricularia grisea* em condições de alta pressão de inóculo ("hot spot"), em Santa Catarina. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.29, supl., p. 269-270, 2004.
8. Urashima, A.S. Variation in virulence in the rice blast fungus *Magnaporthe grisea* in São Paulo State. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 1, p. 109-115, 2002.
9. Yamada, M.; Kiyosawa, S.; Yamaguchi, T.; Hirano, T.; Kobayashi, K.; Watanabi, S. Proposal for a new method for differentiating races of *Pyricularia oryzae* Cavara in Japan. **Annals of Phytopathological Society of Japan**, Tokyo, v. 42, p. 216-219, 1976.