



XLI Congresso Paulista de Fitopatologia

20 a 22 de fevereiro de 2018
Marília - SP

VARIABILIDADE MORFOLÓGICA DE POPULAÇÕES SEGREGANTES DE *Bipolaris oryzae*, APÓS O CICLO SEXUAL

Moreira-Nuñez Victoria^{1*}, Wellington Rodrigues Silva^{2*}, Gisele Zabot^{3*}, Caliandra Bernardi^{4*}, Candida Jacobsen de Farias^{5*}

* Universidade Federal de Pelotas, UFPel, Departamento de Fitossanidade, Laboratório de Patologia de sementes

¹vico_m291@hotmail.com, ²wellington.srodrigues@hotmail.com, ³gisele.zabot@gmail.com

⁴caliandra.bernardi@hotmail.com ⁵jacobsencandida@gmail.com

RESUMO – A mancha parda, causada pelo fungo *Bipolaris oryzae*, destaca-se como uma das principais doenças da cultura do arroz, sendo mencionada nos últimos anos entre as doenças mais frequentes nas regiões produtoras do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. O patógeno caracteriza-se por apresentar alta variabilidade em sua morfologia. Desta forma, esse trabalho teve como objetivo avaliar a variabilidade morfológica de populações segregantes de *B. oryzae* após reprodução sexuada quanto às características morfológicas, comparando-as com os seus respectivos genitores. Os genitores utilizados foram provenientes de diferentes regiões do Rio Grande do Sul. Foi avaliado o índice de crescimento micelial (ICM), dimensões dos conídios, coloração das colônias e presença de setores. Para todas as variáveis analisadas verificaram-se que as progênes apresentaram valores inferiores, intermediário ou superiores aos seus respectivos genitores. Desta maneira, pode-se inferir que a reprodução sexuada pode gerar novos indivíduos com características diferentes, com possibilidades de resistência às condições desfavoráveis.

Palavras-chave: *Oryzae sativa*, mancha parda, reprodução sexual, populações segregantes.

INTRODUÇÃO

A cultura do arroz no Rio Grande do Sul é afetada por varias doenças, nas quais se destaca em importância a mancha parda, causada pelo fungo *Bipolaris oryzae*, de ocorrência comum e frequente nos últimos anos nas regiões produtoras do Rio Grande do Sul e Santa Catarina (SOSBAI, 2014). O principal meio de sobrevivência e disseminação deste patógeno são as sementes que, quando infectadas, apresentam menor poder germinativo e morte de plântulas, além de afetar o rendimento da cultura, provocando danos na ordem de 12 a 30% no peso de grãos (GOPALAKRISHNAN et al., 2010).

O patógeno tem como principal mecanismo de propagação a reprodução assexuada, visto que, a existência da reprodução sexuada em condições naturais, ainda não foi relatada no Brasil, porém já foi observada em condições *in vitro* em diferentes espécies de *Bipolaris* provenientes do mesmo campo de produção do estado Rio Grande do Sul (FARIAS et al.,



XLI Congresso Paulista de Fitopatologia

20 a 22 de fevereiro de 2018
Marília - SP

2011). A reprodução sexuada geralmente proporciona variabilidade, dando origem a novos indivíduos com melhor adaptação às condições adversas (CARLILE et al., 2001).

Existem evidências de que este patógeno apresenta alta variabilidade morfológica, em relação à cor da colônia, crescimento micelial, produção de esporos, e comprimento e largura dos conídios, resultantes de processos como mutação, dissociação de heterocários e parassexualidade (CASA-COILA, 2008; KUMAR et al., 2016), porém, na literatura, inexistem trabalhos sobre a variabilidade morfológica de populações segregantes deste patógeno, após a passagem pelo ciclo sexual.

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a variabilidade morfológica de populações segregantes de *B. oryzae*, após a fase sexuada, comparando com os seus respectivos genitores.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Patologia de Sementes e Fungos Fitopatogênicos da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas (FAEM-UFPel), no Município de Capão do Leão- RS.

Para a avaliação da variabilidade gerada a partir da reprodução sexuada foram utilizados dois casais com compatibilidade sexual conhecida a partir de estudos anteriores, LPS07.2 x LPS05.1 (População 1) e LPS010.4 x LPS07.4 (População 2), provenientes de Camaquã, Tapes e Dom Pedrito (RS). Para cada casal foram avaliadas oito progênies. Tanto os genitores quanto as populações segregantes foram caracterizados quanto o crescimento micelial, características macroscópicas das colônias e microscópicas dos conídios.

Para análise da morfologia macroscópica e do crescimento micelial, inoculou-se um disco (5 mm) de micélio no centro de cada placa de Petri contendo meio BDA e, em seguida, as placas foram mantidas a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas.

Foi avaliado o índice de crescimento micelial (ICM) a partir da fórmula: $\text{ICM} = \frac{C1+C2+\dots+C7}{N1+N2+\dots+N7}$, onde: ICM = índice de crescimento micelial; C1, C2 e C7 = crescimento das colônias na primeira, segunda e última avaliação; N1, N2 e N7 número de dias.

Para a avaliação das características microscópicas dos conídios, foram realizadas medições de comprimento e largura dos conídios, contagem do número de septos em uma



XLI Congresso Paulista de Fitopatologia

20 a 22 de fevereiro de 2018

Marília - SP

amostra de 20 conídios para cada isolado. As colônias foram avaliadas quanto a cor, com auxílio da escala de Mussel, e presença ou ausência de setores.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação ao ICM, pode-se observar uma segregação transgressiva, isto é, indivíduos com valores mais extremos que qualquer um dos genitores (Figura 1A e B). Na população 1, observa-se que dos oito indivíduos avaliados 100% foram totalmente diferentes de seus genitores, onde cerca de 15% apresentaram ICM de 0 a 4 e aproximadamente 85% tiveram ICM de 4 a 8 (Figura 1A). Na população 2, dos oito indivíduos avaliados 10% foram similares aos seus genitores, com ICM de 12 a 16, 60% com valores inferiores, ICM de 4 a 8, e 30% com ICM superior, de 16 a 20 (Figura 1B).

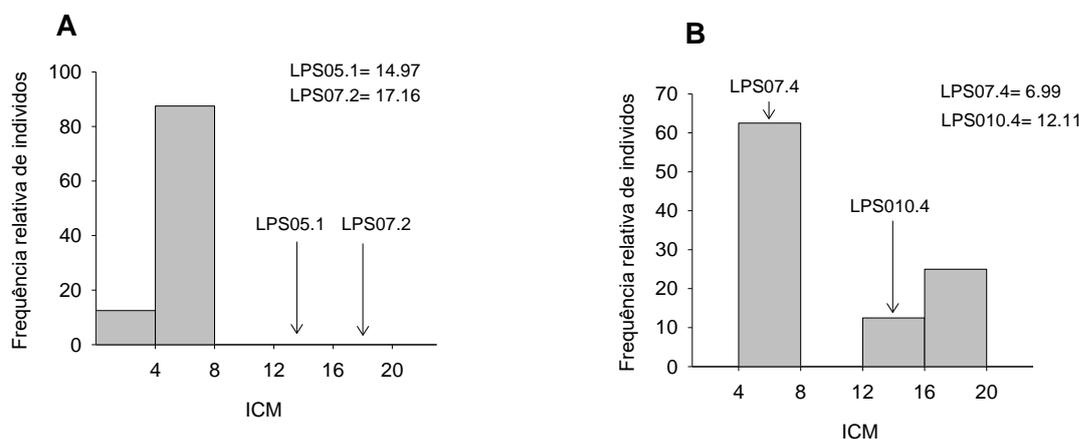


Figura 1. Histogramas de distribuição de frequência relativa para o índice de crescimento micelial (ICM) nas populações dos cruzamentos de *Bipolaris oryzae*. **A.** ICM para a população 1- LPS07.2xLPS05.1 **B.** ICM para a população 2- LPS010.4xLPS07.4. As setas indicam os genitores utilizados para obter a população segregante.

Em relação às características microscópicas dos conídios observa-se uma elevada variabilidade nas populações segregantes. Para a população 1, as progênies obtiveram valores médios entre 62% e 37% de comprimento e largura, respectivamente, acima de seus genitores. Para a população 2, mais de 70% da progênie obtiveram valores médios de comprimento acima de seus genitores (Tabela 1).

Em relação ao número médio de septos dos conídios na população 1, toda a progênie obteve uma média intermediária entre os dois genitores. A população 2, apresentou 12,5% da progênie abaixo (4 septos) dos genitores e 25% acima (7 septos).



XLI Congresso Paulista de Fitopatologia
20 a 22 de fevereiro de 2018
Marília - SP

Tabela 1. Dimensões dos conídios, coloração das colônias e presença de setores dos genitores e suas progênies de populações segregadas por cruzamentos de *Bipolaris oryzae*.

Isolado	Comprimento (µm)		Largura (µm)		Nº de septos		Coloração das colônias*	Presença/Ausência de setores**	
	Média	Min - Max	Média	Min - Max	Média	Min - Max			
População 1: LPS07.2 x LPS05.1									
Genitores	LPS07.2	63,6	44,7 - 83,1	12,2	9,7 - 15,0	4	3 - 6	Cinza esverdeado	A
	LPS05.1	75,1	59,4 - 94,6	15,0	12,5 - 16,9	6	5 - 7	Cinza	A
População	1	75,5	54,4 - 90,1	14,3	11,8 - 17,6	6	5 - 8	Cinza muito escuro	A
	2	78,8	46,9 - 110,4	13,1	9,2 - 15,4	5	3 - 7	Cinza esverdeado	A
	3	82,38	52,7 - 110,3	15,8	13,7 - 17,8	6	4 - 8	Cinza muito escuro	P
	4	63,7	44,3 - 90,7	12,9	11,2 - 14,3	5	3 - 8	Cinza esverdeado	A
	5	85,5	62,6 - 117,7	15,7	11,8 - 19,8	6	4 - 8	Cinza	P
	6	76,7	32,2 - 109,0	14,2	9,5 - 17,2	6	4 - 8	Cinza escuro	A
	7	87,5	59,3 - 110,7	15,8	13,4 - 18,7	6	4 - 9	Cinza escuro	P
	8	76,0	50,9 - 110,6	14,9	11,7 - 18,1	5	3 - 9	Cinza esverdeado	A
População 2: LPS010.4 x LPS07.4									
Genitores	LPS010.4	72,4	51,6 - 93,5	13,3	10,0 - 16,3	6	5 - 8	Cinza	A
	LPS07.4	70,6	57,4 - 89,3	11,8	10,0 - 14,0	5	3 - 7	Cinza esverdeado escuro	A
População	1	78,1	55,7 - 101,0	14,7	12,1 - 18,0	6	4 - 7	Cinza esverdeado muito escuro	A
	2	75,4	56,3 - 89,8	13,7	10,0 - 17,5	6	5 - 8	Cinza	A
	3	83,0	48,1 - 107,2	15,3	13,1 - 18,2	7	5 - 9	Cinza muito escuro	A
	4	91,2	58,0 - 117,6	14,4	8,8 - 16,7	6	3 - 9	Cinza muito escuro	A
	5	85,2	55,9 - 107,4	15,7	12,3 - 18,7	7	4 - 10	Cinza	A
	6	81,4	58,5 - 102,7	14,3	11,3 - 18,6	6	5 - 8	Cinza muito escuro	A



XLI Congresso Paulista de Fitopatologia
20 a 22 de fevereiro de 2018
Marília - SP

7	68,8	53,1 - 86,6	11,2	9,4 - 14,7	4	3 - 6	Cinza esverdeado	A
8	70,9	54,7 - 90,5	14,6	12,6 - 19,3	6	4 - 8	Cinza	A

*Coloração das colônias com base à escala de solos de Mussel (1954). ** P= presença de setores/ A= Ausência de setores



XLI Congresso Paulista de Fitopatologia

20 a 22 de fevereiro de 2018
Marília - SP

Para coloração das colônias na população 1, 50% da progênie foi diferente aos dois genitores. Para a população 2, 37% foi igual ao genitor LPS010.4, sendo que os demais (63%) foram diferente aos dois genitores.

Quanto à presença dos setores, evidenciada por áreas de crescimento micelial de coloração mais claras que a colônia normal, poucos indivíduos foram capazes de forma-los. Sua formação na colônia pode ser uma fonte de variabilidade já que revela mutações somáticas (CAMARGO, 1995), podendo ser uma possível causa de geração de novas variantes genéticas do patógeno.

Conforme observado neste estudo, ocorreu uma elevada variabilidade nas populações segregantes quando comparadas com seus genitores em todas as variáveis analisadas. Estes resultados demonstram a importância do ciclo sexual no incremento da variabilidade e formação de genótipos recombinantes para este fitopatógeno e também estão de acordo com Ni et al. (2011), que ressalta que a reprodução sexuada permite a troca de material genético, gerando novos descendentes e agindo como um mecanismo de ampliação desta variabilidade, embora muitas características sejam mantidas

Neste trabalho, fica evidente a geração de uma nova população, diferente aos seus genitores, após a fase sexuada. Coincidindo com estudos em outros fitopatógenos, como *Colletotrichum lindemuthianum* (SOUZA et al., 2010) e *Monilinia fruticola* (SANOMUANG, et al., 1995); onde foi relatado o efeito da fase sexuada como potencialmente eficaz em gerar novas variantes genéticas em populações, desempenhando um papel importante na determinação da variabilidade, na qual pode conferir resistência quando as condições não são favoráveis (MOREIRA et. al, 2015).

CONCLUSÃO

A fase sexuada tem grande influência na geração de uma nova população com características morfológicas diferentes de seus genitores em *Bipolaris oryzae*.



XLI Congresso Paulista de Fitopatologia

20 a 22 de fevereiro de 2018
Marília - SP

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CAMARGO, L.E.A. Mecanismos de variabilidade genética de agentes fitopatogênicos. In: FILHO, A.B.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v.2, p.455-469, 1995.
- CARLILE, M.J.; WATKINSON, S.C.; GOODAY, G.W. **The fungi**. San Diego Academic Press. 2001.
- CASA-COILA, V.H. Variabilidade de *Bipolaris* sp., agente causal da mancha parda do arroz. 2008. 65 f. **Dissertação** (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.
- FARIAS, J. C.; ALFONSO, S. A.; PIEROBOM, R.; PONTE, M. E. Regional survey and identification of *Bipolaris* spp. associated with rice seeds in Rio Grande do Sul State, Brazil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 3, p. 369-372, 2011.
- GOPALAKRISHNAN, C.; KAMALAKANNAN, A.; VALLUVAPARIDASAN, V. Survey of seed-borne fungi associated with rice seeds in tamil nadu, India. **Libyan Agriculture Research Center Journal International**. v. 1, n. 5, p. 307-309, 2010.
- KUMAR, A.; SOLANKI, I.S.; AKHTAR, J.; GUPTA, V. Morpho-molecular diversity of *Bipolaris oryzae* causing brown spot of paddy. **Indian Journal of Agricultural Sciences**, v. 86, n. 5, p. 615-620, 2016.
- MCDONALD, B.A.; LINDE, C. Pathogen population genetics, evolutionary potential and durable resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 40, p.349-379, 2002.
- MOREIRA, S.I ; CERESINI, C.P, ; ALVES, E. Reprodução Sexuada em *Pyricularia oryzae*. **Summa Phytopathology**, v.41, n.3, p.175-183. 2015.
- NI, M. et al. Sex in fungi. **Annu Rev Genet**.v.45, p.405–430, 2011.
- SANOAMUANG, N.; GAUNT, R.E.; FAUTRIER, A.G. The segregation of resistance to carbendazim in sexual progeny of *Monilinia fructicola*. **Mycological Research**, v. 99, n. 6, p. 677-680, 1995.
- SOSBAI. **Arroz irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil**. Reunião técnica da cultura de arroz irrigado. Santa Maria, 2014. 192 p.
- SOUZA, E.A.; CAMARGO, O.A.; PINTO, J.M.A. Sexual recombination in *Colletotrichum lindemuthianum* occurs on a fine scale. **Genetic and molecular research**, v.9, n. 3, p. 1759-1769, 2010.