

PATOGENICIDADE DE ISOLADOS DO FUNGO *Bipolares sorokiniana* EM CULTIVARES DE CEVADA E TRIGO

IVANI RAMOS DO CARMO

Biologista UNICASTELO, Pós-graduação Latu Sensu em Microbiologia Geral

ANDRÉIA A.O. SILVA

Mestranda em Biotecnologia pela UMC; Professora do Departamento de Ciências da Saúde da UNINOVE

ELIANA RODRIGUES

Professora Doutora e Diretora do Departamento de Ciências da Saúde da UNINOVE

NOEMIR ANTONIAZZI

Engenheiro Agrônomo – Fundação Agrária de Pesquisa Agropecuária, Guarapuava, Paraná

ERNA E. BACH

Professora credenciada do Instituto de Química, Pós Biotecnologia – UNESP/Araraquara;
Professora e pesquisadora do Departamento de Química – UNICASTELO e
Professora do Departamento de Ciências Exatas da UNINOVE

RESUMO

As doenças do trigo e da cevada causadas por *Bipolaris sorokiniana* vêm acarretando consideráveis perdas no rendimento e produção. O objetivo do presente trabalho foi identificar os isolados, observando os sintomas. Testes de patogenicidade em casa-de-vegetação demonstraram que as cultivares de cevada e trigo foram suscetíveis a todos os patógenos, na concentração de 105 conídios/ml. Assim, isolados de trigo e cevada de *Bipolaris sorokiniana* apresentaram reação cruzada, demonstrando o nível de especialização nos cultivares.

Palavras-chave: cevada; trigo; isolados; patogenicidade.

ABSTRACT

Wheat and barley diseases caused by *Bipolaris sorokiniana* were important symptoms for reduction in productivity. This work was developed to identify the isolates based upon pathogenicity and the referred symptoms on wheat and barley plants. Under greenhouse conditions, wheat and barley plants were susceptible at a concentration of 105 conidia/ml. Wheat and barley isolates from *Bipolaris sorokiniana* presented across reaction and speciality level in both cultivars.

Key words: barley; wheat; isolates; pathogenicity.

INTRODUÇÃO

A helmintosporiose é uma doença fúngica que ataca trigo, cevada, milho, sorgo e capim. Para cada variedade de planta, pode-se ter o mesmo gênero ou outro. Para o trigo, a mancha marrom tem sido causada por *Bipolaris sorokiniana* (Sacc) Shoem, originariamente denominado *Helminthosporium sativum*, a doença mais prejudicial a essa cultura. Já para as culturas de cevada, as doenças mais comuns são a *Blumeria graminis hordei*, *Puccinia hordei*, *Bipolaris sorokiniana* e *Drechslera teres*, causadoras de prejuízos aos produtores e às indústrias cervejeiras. No caso de *Bipolaris sorokiniana* Shoemaker (fase perfeita ou sexuada como *Cochliobolus sativus* Dastur), este tem sido o patógeno mais sério para a cultura de cevada, encontrado nas sementes associadas à podridão-comum-das-raízes e às manchas foliares (REIS *et al.*, 1988; KUMAR *et al.*, 2001). Sobre as manchas, verifica-se a presença de micélio com abundante esporulação, cujos esporos podem ser removidos facilmente pela chuva ou levados pelo vento (PICININI, 1990). O patógeno *Bipolaris sorokiniana* sobrevive nos diferentes cereais, de uma safra a outra, nas sementes e nos restos de culturas de trigo, triticale, centeio e cevada (FORCELINI, 1991; MACHADO, 1982; MEHTA, 1978; NILSEN *et al.*, 1979; OLIVEIRA; BAIER, 1993, REIS *et al.*, 1982, 1988; SANTOS *et al.*, 1990, 1996).

Essas doenças causam perdas econômicas que chegam a atingir até 30% da produção, além de infectar sementes que, dependendo das condições climáticas em que foram produzidas, podem apresentar de 10 a 100% de infecção pelo fungo (NASSER, 1987). As sementes infectadas por *B. sorokiniana* apresentam elevada taxa de transmissão, que varia de 60 a 90%, sendo por isso, responsável pelo estabelecimento de inúmeros focos iniciais da doença no campo (FORCELINI, 1991).

Neste trabalho, procurou-se isolar, identificar e inocular as cultivares, a fim de analisar o efeito patogênico de *Bipolaris sorokiniana* nas plantas de cevada e trigo.

MATERIAL E MÉTODOS

Os fungos *B. sorokiniana* foram isolados diretamente de folhas de cevada e de trigo oriundas do campo da Antártica (Paraná) e mantidos em crescimento em meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar). Seis isolados da cevada e um isolado de trigo foram utilizados nos ensaios (Tabela 1).

TABELA 1: Relação dos isolados de *Bipolaris sorokiniana* obtidos de folhas de cevada e do trigo.

Nº Isolado	Fungo	Procedência
1	<i>B. sorokiniana</i>	Folhas de cevada cultivar Embrapa 127
2	<i>B. sorokiniana</i>	Folhas de cevada cultivar Embrapa 128
3	<i>B. sorokiniana</i>	Folhas de cevada cultivar Embrapa 129
4	<i>B. sorokiniana</i>	Folhas de cevada cultivar Br2
5	<i>B. sorokiniana</i>	Folhas de cevada cultivar AF 94135
6	<i>B. sorokiniana</i>	Folhas de cevada cultivar CEV 95033
7	<i>B. sorokiniana</i>	Folhas de trigo cultivar IAC-24

Depois de 10 dias de crescimento em meio BDA, os conídios foram removidos do substrato com auxílio de 5 ml de água destilada esterilizada contendo 0,05% de Tween 20 (poli-oxietileno sorbitan monolaurato, Sigma Chemical Co.), filtrados por gaze e contados no hematócrito (Improved Neubauer 1/400 SQ. 1/10 mm deep ultraplano), até a concentração de 105 conídios/ml.

Para a preparação das plantas, semearam-se dez sementes de cada cultivar (AF-94135, CEV 95033, Br2, Embrapa 127, Embrapa 128 e Embrapa 129), em vasos contendo terra vegetal adubada e mantidas em casa-de-vegetação, à temperatura ambiente, até o estágio 5 da escala de Feekes-large (LARGE, 1954). As sementes de cevada foram fornecidas pela Fundação de Guarapuava, Paraná.

Já as sementes de trigo recebidas do Instituto Agronômico de Campinas foram semeadas da mesma maneira que a cevada e mantidas até o estágio de formação da quinta folha.

Utilizaram-se grupos de dez vasos nos testes de patogenicidade para cada cultivar, em 3 repetições. De todas as plantas, foram aspergidas cerca de 10ml da suspensão de conídios, utilizando-se um aspersor de vidro, tendo, como agente propulsor, bomba de ar comprimido numa pressão de 0,25 bars, a 40 cm de distância das folhas, visando a manter a maior homogeneidade de dispersão da suspensão de conídios.

Depois da inoculação, as plantas foram incubadas por 12 horas em câmara úmida (100% UR), no escuro, a 22°C e, em seguida, transferidas para casa-de-vegetação, sendo mantidas sob condições de temperatura e luminosidade ambiente, até o aparecimento das lesões. Efetuou-se a avaliação com base na presença de lesões e no número de folhas com lesões, transformadas em porcentagem para cada cultivar e isoladas. Todo o experimento foi analisado por meio de estatística Teste T de Student's e pelo Origin (ANOVA - Análise de variância).

RESULTADOS

As folhas infectadas de cevada e trigo com *B. sorokiniana* apresentaram colônias de cor marrom, aspecto aveludado, observados através de microscópio estereoscópio (Figuras 1, 2, 3). No microscópio óptico, foi possível observar os conidiófaros curtos com poros germinativos bipolar característicos de *Bipolaris* (Figura 4).

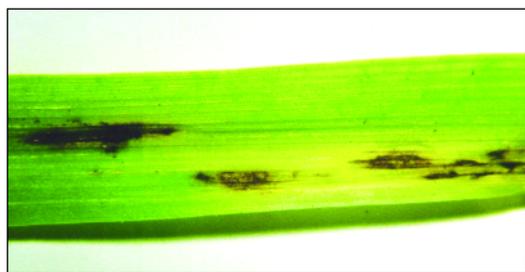


Figura 1: Folha de cevada apresentando lesão com manchas marrons de *Bipolaris sorokiniana*.

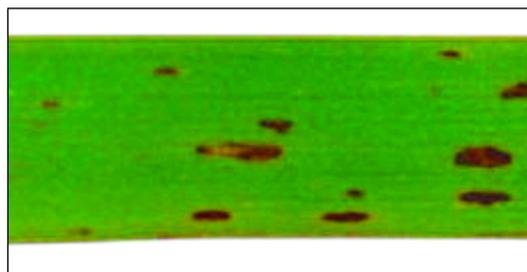


Figura 2: Folha de trigo cultivar IAC-24 apresentando lesão com manchas marrons típicas de *B. sorokiniana*.

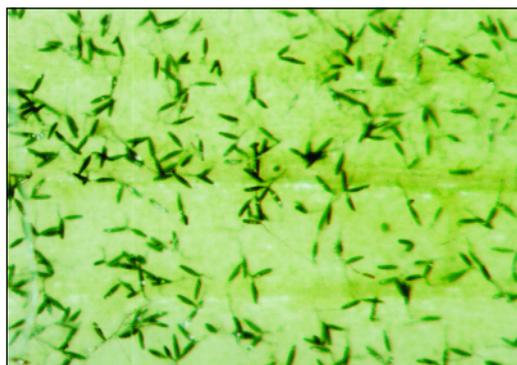


Figura 3: Conídios sobre a folha de cevada ou trigo, após permanência em câmara úmida para isolamento.

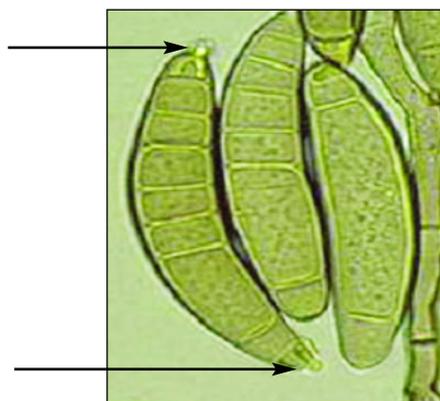


Figura 4: Conídios de *Bipolaris sorokiniana* isolados de sementes de cevada e trigo, após 10 dias de crescimento da cultura (aumento: 800X). Seta indica presença de poro germinativo com característica bipolar do fungo.

Os isolados de *B. sorokiniana* de cevada e trigo resultaram na formação de lesões nas cultivares de cevada e trigo, demonstrando ser virulentos a todas as plantas. Entretanto, observada a porcentagem de folhas com sintomas em cada cultivar, foi possível verificar a ação patogênica de cada isolado.

Na Figura 5, foi possível observar que o isolado de trigo se apresentou mais virulento ao próprio trigo, bem como às cultivares de cevada CEV-95033 e Br2. Já para as outras cultivares de cevada, a porcentagem variou de 42,7 até 13,3%, demonstrando grau de agressividade menor (Tabela 2).

Na Figura 6, o isolado de cevada 2 foi patogênico à planta de trigo, chegando a 100% de sintomas. No entanto, os isolados 5, 6 e 1 apresentaram porcentagem de 38,8, 46 e 4,65%, respectivamente; isolados, 3 e 4 não apresentaram sintomas nas plantas de trigo (Tabela 2).

Observando os sintomas nas plantas de cevada, todos os isolados foram patogênicos, com exceção do isolado 2 com a cultivar Br2, isento de sintomas. O isolado 5 (oriundo da cultivar AF 94135) foi o mais virulento para todas as variedades, podendo-se observar porcentagem de infecção acima de 60% em todas elas. Se as porcentagens fossem somadas, chegaríamos a 495,8%. O isolado que apresenta o total de 420% de infecção tem sido o de número 6, variando de 27 a 97,7%. Já o isolado 4 apresenta 418,26% no total, variando de 38,46 a 100% de infecção (Figura 6, Tabela 2).

Isolados 1, 2 e 3, oriundos das cultivares Embrapa, mostraram menor agressividade, apresentando respectivamente o total de infecção de 258,9%, 271,58% e 387,5%. Assim, o Isolado 1 apresentou variação de 13,8 a 73%, enquanto no Isolado 2 a variação ficou entre zero (para Br2) e 73,3%. Já no Isolado 3, a variação ficou entre 2 e 87,5% (Figura 6, Tabela 2).

Tabela 2: Porcentagem de folhas com sintomas em cultivares de cevada e trigo, infectadas com isolados de trigo e cevada.

Isolados	Plantas						Total % virulência**	Planta Trigo IAC-24
	Emb 127	Emb 128	Emb 129	CEV 95033	AF 94135	Br2		
1	66,6	62,5	23	20	73	13,8	258,9	4,65
2	44	64,28	73,3	40	0	50	271,58	100
3	80	20	87,5	80	40	80	387,5	0
4	84,2	71,4	38,46	100	55,5	68,7	418,26	0
5	78,5	86,6	71,3	66,6	100	92,8	495,8	46
6	22,7	96	86,6	73,3	97,7	43,7	420	38,8
Total % infecção*	376	400,78	380,16	379,9	366,2	349		189,45
Isolado7	13,3	30	42,7	100	66,6	20		80

* Maior porcentagem e maior grau de suscetibilidade (plantas de cevada)

** Maior porcentagem de virulência e maior capacidade de causar doença.

Cálculo da % num total de 50 folhas de 30 plantas, com 3 repetições. Plantas: Trigo (IAC-24) e Cevada (AF 94135, CEV 95033, Br2, Embrapa 127, Embrapa 128, Embrapa 129).

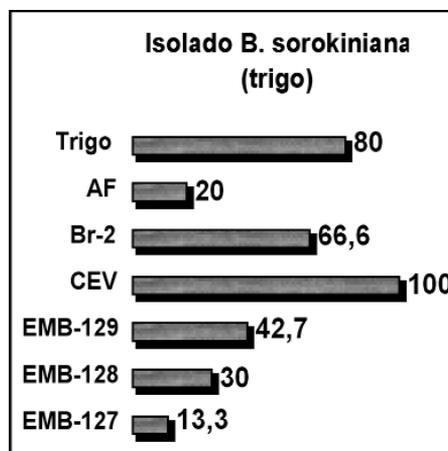


Figura 5: Porcentagem de folhas com sintomas em cultivares de cevada e trigo, infectadas com isolado de trigo (isolado n. 7 da Tabela 1). Cálculo da % num total de 50 folhas de 30 plantas, com 3 repetições. Plantas: Trigo (IAC-24) e Cevada (AF 94135, CEV 95033, Br2, Embrapa 127, Embrapa 128, Embrapa 129).

DISCUSSÃO

O fungo *Bipolaris sorokiniana* apresentou colônias com aparência aveludada e conídios levemente curvos, fusiformes e elipsoidais, arredondados no ápice, e com conidióforos não ramificados. Estas características observadas nas colônias e conídios estão de acordo com as descritas por Bach (1997), Morejon; Moraes (1993), Muchovej *et al.* (1988) e Alcorn (1988). Assim, todos os isolados obtidos no presente trabalho foram identificados como *Bipolaris sorokiniana*.

No Brasil, o cultivo da cevada está concentrado nos estados do Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina, sendo exclusivamente para fins cervejeiros (TONON, 1992). Entretanto, nas mesmas áreas, vem sendo também cultivado o trigo a cuja produção e qualidade dos grãos a helmintosporiose também causa prejuízos.

Segundo Prates; Fernandes (2000), para as plantas de trigo, quando a temperatura local aumenta

de 12 a 28°C, a severidade da mancha marrom aumenta, podendo trazer problemas para as culturas. Já a cultivar IAC-24 se apresenta como suscetível em nível de campo ou laboratório, como demonstrado por Bach (1997), Loughman; Deverall (1986), Larez *et al.* (1986) e Luz; Hosford (1980).

Como o fungo *Bipolaris sorokiniana* causa a mesma doença no trigo e na cevada, o presente projeto avaliou a patogenicidade dos isolados perante as respectivas cultivares.

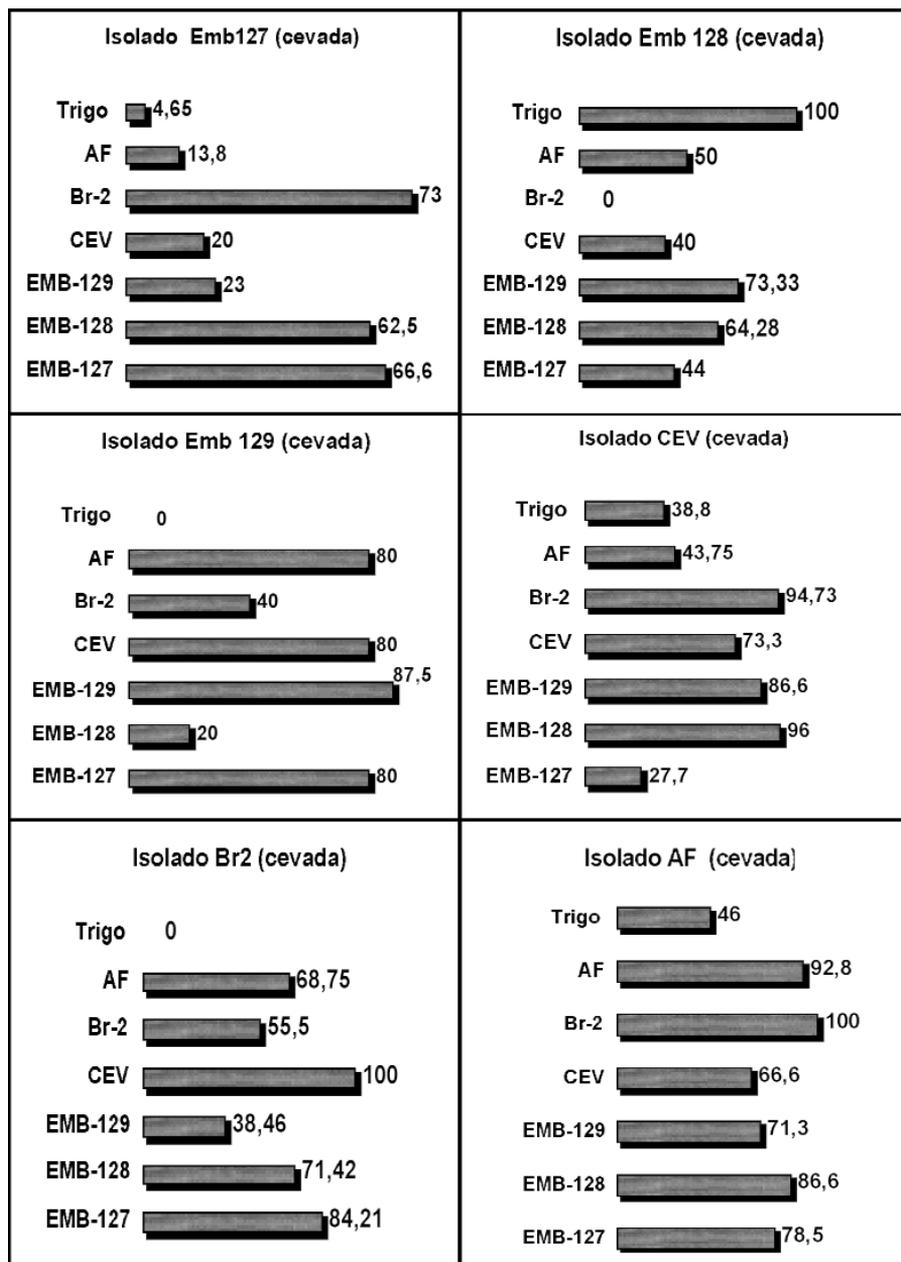


Figura 6: Porcentagem de folhas com sintomas em cultivares de cevada e trigo, infectadas com isolados de cevada (isolado 1-Emb 127; isolado 2-Emb 128; isolado 3-Emb 129; isolado 4 - Br2; isolado 5 - AF; isolado 6 -CEV da Tabela 1). Cálculo da % num total de 50 folhas de 30 plantas, com 3 repetições. Plantas: Trigo (IAC-24) e Cevada (AF 94135, CEV 95033, Br2, Embrapa 127, Embrapa 128, Embrapa 129).

Segundo Rudolph (1995), a patogenicidade tem sido definida como a habilidade de causar doença e virulência, além de sua capacidade relativa de infectar o hospedeiro. Os fatores de patogenicidade são atributos essenciais de um patógeno, enquanto os de virulência aumentam a severidade da doença. No caso de patógenos, pode-se notar alto grau de especialização quanto à espécie hospedeira, denominada interespecífica. Segundo Camargo (1995), o fungo *Erysiphe graminis* apresenta a especialização interespecífica, existindo formas especiais patogênicas para trigo, aveia ou cevada. No entanto, as formas especiais podem aumentar o nível de especialização, podendo-se encontrar isolados que atacam somente alguns cultivares da espécie hospedeira, denominada especialização intra-específica.

Os resultados deste trabalho demonstraram que o isolado de trigo de *Bipolaris sorokiniana* apresentou sintomas nas plantas de cevada, bem como isolados de cevada de *Bipolaris sorokiniana* apresentaram sintomas em plantas de trigo, indicando a presença de reação cruzada ou nível de especialização interespecífico pelos hospedeiros, quer seja trigo ou cevada. Esta especialização em campo se torna um problema muito sério pelo ataque do patógeno contra qualquer hospedeiro.

Entretanto, observando-se os isolados de cevada e cultivares de cevada, notou-se diferença no grau de suscetibilidade, ou ainda no nível intra-específico. Neste caso, Camargo; Bergamin Filho (1995) informam que o patógeno difere quanto à virulência. Assim, o isolado mais virulento foi o Isolado 5, seguido de 6, 4, 3, 2 e 1. Já o grau suscetibilidade foi dado para cultivar que apresentou maior porcentagem de infecção, sendo representado pela cultivar Embrapa 128 (com 400,78%), seguido da cultivar Embrapa 129 (com 380,16%) e, pela ordem, dos cultivares CEV 95033 (com 379,9%), Embrapa 127 (com 376%), Br2 (com 366,2%) e cultivar AF-94135 (com 349%), conforme Tabela 2. A reação diferenciada das cultivares de cevada pode estar ligada a diferenças genéticas de cada uma, de acordo com Sharma; Dubin (1996).

É interessante observar que plantas de trigo, comparadas com as de cevada, apresentaram grau de suscetibilidade menor (189,45%) quando em contato com os isolados de cevada. Mesmo assim, caso um campo de trigo esteja infectado, será necessário tomar providências para o controle da doença, uma vez que esta poderá passar para a cevada ou vice-versa.

CONCLUSÃO

Com base nos resultados, conclui-se que isolados de trigo e cevada de *Bipolaris sorokiniana* apresentam o nível de doença inter e intra-específico com as cultivares de trigo e cevada, devendo-se, assim, tomar cuidado nos cultivos não distantes uma da outra.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALCORN, J.L. The taxonomy of *Helminthosporium* species. *Annual Review. Phytopathology*, Palo Alto, 26: 37-56, 1988.
- BACH, E. E. Distinção morfológica e isoenzimática de *Bipolaris* spp. e *Drechslera tritici-repentis* do trigo; aspectos bioquímicos nas interações e indução de resistência. Tese de doutorado, Universidade de São Paulo, Esalq, 1997, p.150.
- CAMARGO, L.E.A.; BERGAMIN FILHO, A. Controle genético. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H., AMORIM, L. *Manual de Fitopatologia*. 3. ed. São Paulo: Ceres, 1995. p. 729-758.
- _____. Mecanismos de variabilidade genética de agentes fitopatogênicos. In: _____. *Manual de Fitopatologia*. 3. ed. São Paulo: Ceres, 1995. p. 455-469.
- FORCELINI, C.A. Trigo – a importância do tratamento de sementes. *Correio Agropecuário*, São Paulo, 1, p. 2-5, 1991.
- KUMAR, J.; HÜCKELHOVEN, R.; BECKHOVE, U.; NAGARAJAN, S.; KOGEL, K.H. A compromised Mlo pathway affects the response of barley to the necrotrophic fungus *Bipolaris sorokiniana* (Teleomorph: *Cochliobolus sativus*) and its toxins. *Phytopathology*, St. Paul, 91, p.127-133, 2001.
- LARGE, E.C. Growth stages in cereal: Illustration of the Feekes scale. *Plant Pathology*, New York. 3, p.29, 1954.

- LAREZ, C.R.; HOSFORD, R.M.; FREEMAN, T.P. Infection of wheat and oats by *Pyrenophora tritici-repentis* and initial characterization of resistance. *Phytopathology*, St. Paul, 76, p. 931-938, 1986.
- LOUGHMAN, R.; DEVERALL, B.J. Infection of resistant and susceptible cultivars of wheat by *Pyrenophora tritici-repentis*. *Plant Pathology*, New York, 35, p. 443-450, 1986.
- LUZ, W.C.; HOSFORD, R. M. Twelve *Pyrenophora trichostoma* races for virulence to wheat in the Central Plains of North America. *Phytopathology*, St. Paul, 70, p. 1193-1196, 1980.
- MACHADO, J.C. Controle de fitopatógenos associados a sementes. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, 8 (91), p. 34-40, 1982.
- MEHTA, Y.R. *Doenças do trigo e seu controle*. São Paulo: Agronômica Ceres, 1978, 190 p.
- MOREJON, K.R.; MORAES, M.H.D. Uma nova espécie de *Helminthosporium* Link. Sobre sementes de trigo (*Triticum aestivum*) no Brasil. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, 19: 39, 1993.
- MUCHOVEJ, J.J.; MUCHOVEJ, R.M.C.; RIBEIRO-NESIO, M.L. Taxonomia de *Drechslera*, *Bipolaris* e *Exserohilum*. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 13: 211-223, 1988.
- NASSER, L.C.B. Testes de sanidade de sementes de trigo (*Triticum aestivum* L.). In: SOAVE, J.; WETZEL, M. M. V. S. (editores). *Patologia de Sementes*., Campinas: Fundação Cargill, 1987, p. 469-480.
- NILSEN, K.N.; HODGES, C.F.; MADSEN, J.P. Pathogenesis of *Drechslera sorokiniana* leaf spot on progressively older leaves of *Poa pratensis* as influenced by photoperiod and light quality. *Physiological Plant Pathology*, New York, 15: 171-176, 1979.
- OLIVEIRA, A.M.R.; BAIER, A.C. Qualidade industrial e resistência à helminthosporiose e à fusariose em triticale, trigo e centeio. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 28: 603-608, 1993.
- PRATES, L. G.; FERNANDES, J. M. C. Efeito da temperatura no crescimento micelial de *Bipolaris sorokiniana*. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, 25: 661-663, 2000.
- PICININI, E. C. O controle de uma doença em potencial. *Correio Agrícola*, São Paulo, 1: 7-9, 1990.
- REIS, E.M.; FERNANDES, J.M.C.; PICININI, E.C. *Estratégia para o controle de doenças do trigo*. Passo Fundo: EMBRAPA - CNPT, 1988, 50 p.
- _____. *Estratégia para o controle de doenças do trigo*. Passo Fundo: EMBRAPA - CNPT, 1982, 50 p. (EMBRAPA - CNPT, Documentos, 7).
- RUDOLPH, K.W.E. *Pseudomonas syringae* pathovars. In. SINGH, V.S.; SINGH, R.P.; KOHMOTO, K. (Ed). *Pathogenesis and host specificity in plant diseases: hystopathological, biochemical, genetic and molecular bases*. New York: Elsevier Science, v.1, p.47-138, 1995.
- SANTOS, H. P; REIS, E. M.; PEREIRA, L. R. Rotação de culturas. XVII. Efeitos no rendimento de grãos e nas doenças do sistema radicular do trigo de 1980 a 1987. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 25: 1627-1635, 1990.
- SANTOS, H. P; REIS, E. M.; LHAMBY, J. C. B.; WOBETO, C. Efeito da rotação de culturas sobre o trigo, em sistema plantio direto, em Guarapuava, PR. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 31: 259-267, 1996.
- SHARMA, R. C.; DUBIN, H. J. Effect of wheat cultivar mixtures on spot blotch (*Bipolaris sorokiniana*) and grain yield. *Field Crops Research*, Paris, 48: 95-101, 1996.
- TONON, J. Cevada - As principais doenças fúngicas. *Correio Agrícola*, São Paulo, 1:12-15, 1992.
