

Identificação de Fontes de Resistência à Ferrugem da Folha do Trigo em Acessos de *Aegilops tauschii*

Ângela B. Almeida¹, Márcia S. Chaves², Sandra P. Brammer² & Maria Irene Baggio¹

¹Universidade de Passo Fundo, Cx. Postal 611, CEP 99001-970, Passo Fundo, RS, Brasil, e-mail: angelabiologia@yahoo.com.br;

²Embrapa Trigo, Cx. Postal 451, CEP 99001-970, Passo Fundo, RS, Brasil, e-mail: mchaves@cnpt.embrapa.br

Autor para correspondência: Márcia Soares Chaves

ALMEIDA, A.B., CHAVES, M.S., BRAMMER, S.P. & BAGGIO, M.I. Identificação de fontes de resistência à ferrugem da folha do trigo em acessos de *Aegilops tauschii*. Fitopatologia Brasileira 32:349-352. 2007.

RESUMO

No Brasil, prejuízos ocasionados pela ferrugem da folha do trigo (*Puccinia triticina*) ocorrem anualmente. A incidência generalizada nas diferentes regiões produtoras varia em intensidade, dependendo das condições climáticas, da resistência genética das cultivares e do controle químico, sendo que a utilização de cultivares resistentes é o método mais eficiente de controle. Os genes que conferem resistência à ferrugem da folha em trigo são denominados *Lr* (leaf rust). Vários desses genes já foram identificados e mapeados. Alguns deles foram mapeados diretamente em genótipos hexaplóides, enquanto outros foram primeiramente encontrados em espécies afins, com menor nível de ploidia e, posteriormente, transferidos para o trigo cultivado. Das espécies afins, destaca-se a espécie diplóide *Aegilops tauschii*, doadora do genoma D do trigo cultivado, como uma importante fonte de genes de resistência. O objetivo desse trabalho foi avaliar a resistência à ferrugem da folha em acessos de *Ae. tauschii*, oriundos do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Trigo (BAG – Passo Fundo, RS), para utilização das seleções nos programas de melhoramento. Quarenta acessos foram avaliados quanto à reação à raça SPJ-RS de *Puccinia triticina* e, destes, 25% (10 acessos) apresentaram resistência. Os dados obtidos neste estudo servem como subsídio na escolha de acessos resistentes que poderão ser utilizados como genitores em programas de melhoramento genético a fim de incremento de resistência a esse patógeno.

Palavras-chave adicionais: *Triticum aestivum*, *Puccinia triticina*, *Aegilops squarrosa*.

ABSTRACT

Identification of wheat leaf rust resistance accessions of *Aegilops tauschii*

In Brazil, losses caused by wheat leaf rust (*Puccinia triticina*) occur annually. The widespread incidence in the different producing areas varies in intensity, depending on climatic conditions, level of genetic resistance of the cultivars and efficacy of chemical control. The use of resistant cultivars is the most efficient control method, and the genes conferring resistance to leaf rust fungus are denominated *Lr*. Several of these genes have already been identified and mapped. Some of them were mapped directly in hexaploid wheats, while others were initially found in related species, with lower ploidy level and later transferred to cultivated wheat. Among related species, *Aegilops tauschii*, the diploid species donor of the D genome of cultivated wheat, is indicated as an important source of resistance genes to leaf rust. The objective of this work was to evaluate the resistance of *A. tauschii* accessions from the Active Germplasm Bank of Embrapa Trigo (BAG - Passo Fundo, RS) to leaf rust, in order to incorporate this resistance in commercial varieties. The reaction to race SPJ-RS of *Puccinia triticina* was evaluated in forty accessions of *A. tauschii* and 25% (10 accessions) were resistant. The data obtained in this study can help in choosing resistant accessions to be used as parents in breeding programs in order to increase resistance to the pathogen.

Additional keywords: *Triticum aestivum*, *Puccinia triticina*, *Aegilops squarrosa*.

A ferrugem da folha do trigo (*Triticum aestivum* L.) causada pelo fungo *Puccinia triticina* Erikss. (sin. *Puccinia recondita* Dietel & Holw.) é provavelmente a mais importante doença fúngica que afeta esse cereal. No Brasil, epidemias desta moléstia inevitavelmente têm ocorrido, sendo que a severidade nas diferentes regiões produtoras pode variar de acordo com as condições climáticas, a época de início da epidemia, a resistência dos genótipos presentes

e utilização de controle químico. Em genótipos suscetíveis, a severidade pode atingir níveis elevados comprometendo tanto o rendimento quanto a qualidade de grãos, os quais podem sofrer decréscimos acima de 30%, podendo chegar até a 50% ou mais (Roelfs *et al.*, 1992; Reis *et al.*, 1996; Chaves & Barcellos, 2003).

O controle químico com fungicidas ainda é a forma mais utilizada para evitar as perdas ocasionadas pela doença. Este método, no entanto, tem grande impacto econômico, ambiental e social (Moraes-Fernandes, 1987). Para cultivares altamente suscetíveis, muitas vezes são necessárias duas aplicações de fungicidas, com custo de cerca de US\$ 30/ha por aplicação. Estima-se que, no Brasil, nos últimos 10 anos,

Parte da dissertação de Mestrado do primeiro autor. Universidade de Passo Fundo. Passo Fundo RS. 2006.

o custo total da aplicação aérea de fungicidas para o controle de doenças foliares de trigo tenha sido de cerca de US\$ 90 milhões. Neste mesmo período, estima-se que as epidemias de patógenos foliares causaram prejuízos de cerca de US\$ 172 milhões aos produtores de trigo no Cone Sul da América do Sul (Germán *et al.*, 2004).

O método mais eficiente e econômico para a redução das perdas provocadas pela ferrugem na lavoura é a utilização de cultivares resistentes (Nelson, 1973b). Esta prática, além de evitar as perdas causadas pelas moléstias, não aumenta os custos de produção, garantindo maior retorno aos produtores (Nelson, 1973a; Priestley & Bayles, 1988).

Embora grande progresso no melhoramento para resistência à ferrugem da folha do trigo tenha sido alcançado nas últimas três ou quatro décadas, observa-se que houve um estreitamento na base genética do germoplasma atualmente disponível. Além disso, o surgimento de novas raças do patógeno implica na necessidade contínua de buscar novas fontes de resistência. Com o intuito de obter cultivares mais adaptadas e com resistência a essa moléstia, a introgressão de genes de espécies silvestres representa grandes potencialidades econômicas (Barbosa *et al.*, 1993, Angra *et al.*, 1996).

A maioria das espécies da tribo *Triticeae* são portadoras de resistência à ferrugem da folha (Zaharieva *et al.*, 2001; Jones *et al.*, 1995; Stepién *et al.*, 2003), a qual é baseada em genes de resistência *Lr* (leaf rust). Entre as espécies silvestres que têm fornecido importantes genes de resistência *Lr* encontra-se *Aegilops tauschii* Coss. (sin. *Aegilops squarrosa*, *Triticum tauschii*, $2n = 2x = 14$, DD), a qual apresenta uma ampla distribuição ecológica e tem sido considerada uma das espécies diplóides mais importantes do grupo *Triticum-Aegilops* (Aguilar-Rincón *et al.*, 2000; Assefa & Fehrmann, 2004). No trigo cultivado (*Triticum aestivum*), dos 57 genes *Lr* descritos, oito são oriundos de *Ae. tauschii*: *Lr21*, *Lr32*, *Lr39*, *Lr40*, *Lr41*, *Lr42* e *Lr43* (Rowland & Kerber, 1974; Kerber, 1987; Cox *et al.*, 1994), os quais são efetivos durante todo o ciclo da planta, e *Lr22a* (Dyck & Kerber, 1970; Rowland & Kerber, 1974) o qual é descrito como gene de resistência de planta adulta.

Além disso, *A. tauschii* é uma espécie a que se tem dado particular atenção por produzir hexaplóides sintéticos (AABBDD), obtidos mediante cruzamentos interespecíficos diretos, podendo ser útil na transferência de genes de interesse (Moraes-Fernandes *et al.*, 2000; Aguilar-Rincón *et al.*, 2000). Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar a resistência à ferrugem da folha em acessos de *A. tauschii* para posteriores cruzamentos em programas de melhoramento, a fim de incorporar esta resistência em cultivares comerciais.

O experimento foi realizado no Laboratório de Biotecnologia e no Laboratório de Ferrugens do Trigo da Embrapa Trigo (Passo Fundo – RS) durante o período de março a junho de 2004. Foram avaliados 40 acessos de *A. tauschii* (Tabela 1), oriundos do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) dessa instituição quanto à reação à ferrugem da folha. A raça de *P. triticulturae* selecionada para

TABELA 1 - Acessos de *Aegilops tauschii* e tipo de infecção em primeira folha de plântulas inoculadas com a raça SPJ-RS de *Puccinia triticulturae*, sob condições controladas. Embrapa Trigo, Passo Fundo, 2006

Número	Código do Acesso	Origem no BAG - Embrapa Trigo	Tipo de Infecção ¹
1	RL5003	Oídio 89	0
2	RL5491	180455/89	;
3	RL5492	180457/89	3
4	RL5495	180458/89	3
5	RL5496	180460/89	;
6	RL5497	30720/88	0
7	RL5522	140510/83	3
8	RL5523	247369/94	3
9	RL5525	247375/94	3
10	RL5527	247376/94	3
11	RL5528	340010/91	1
12	RL5531	340014/91	;
13	RL5536	340016/91	3
14	RL5537	50744/82	3
15	RL5538	247381/94	3
16	RL5540	247382/94	3
17	RL5543	340019/91	3
18	RL5544	247383/94	3
19	RL5547	340021/91	3
20	RL5550	30769/88	;
21	RL5555	340028/91	3
22	RL5556	340030/91	3
23	RL5558	340031/91	3
24	RL5559	247397/94	3
25	RL5560	247399/94	3
26	RL5565	247401/94	3
27	RL5570	247403/94	3
28	NE 29227C	135278/93	3
29	RL 5422	OIDIO 89	3
30	RL 5552	247407/94	3
31	RL 5562	340033/91	3
32	RL 5660	825019/98	3
33	RL 5660	151653/85	3
34	RL 5665	825023/98	;
35	RL 5668	825024/98	3
36	RL 5684	825036/98	3
37	RL 5695	825042/98	3
38	RL 5771	OIDIO 89	;
39	RL 5793	625055/96	;
40	RL 5799	OIDIO 89	3

¹Tipos de infecção 0, ; e 1: Resistência, tipo de infecção 3: Suscetibilidade

a inoculação foi SPJ-RS (Long & Kolmer, 1989), por apresentar o mais amplo espectro de virulência ocorrente no Brasil até a realização dos testes. Esta raça é avirulenta

em cultivares portadores dos genes *Lr3*, *Lr3ka*, *Lr16*, *Lr20*, *Lr21* e *Lr30*, e virulenta em cultivares que possuem os genes *Lr1*, *Lr2a*, *Lr2c*, *Lr9*, *Lr10*, *Lr11*, *Lr14a*, *Lr14b*, *Lr17*, *Lr18*, *Lr23*, *Lr24* e *Lr26* (Chaves & Barcellos, 2006). O inóculo foi proveniente da coleção de raças de *P. triticina* mantido pela Embrapa Trigo.

Sementes dos acessos foram desinfestadas em hipoclorito de sódio a 1% e álcool etílico a 70%, por 1 minuto cada, sendo em seguida colocadas em papel germitest umedecido com água destilada e posteriormente transferidas para geladeira, durante sete dias, a 4°C, a fim de realizar a quebra da dormência das mesmas. Após o processo de vernalização, as sementes foram transferidas para germinador a 20°C durante 15 dias, a fim de promover a germinação e o desenvolvimento da parte aérea até esta atingir cerca de 10 cm.

As plântulas foram então transferidas para copos plásticos contendo 150 g de solo nativo. A acidez foi corrigida com calcário e adicionou-se adubação recomendada pela análise de solo. Cada acesso foi semeado em três copos; cada copo contendo três sementes. Os copos foram dispostos completamente ao acaso e mantidos em casa-de-vegetação.

Uredíniosporos da raça SPJ-RS em suspensão de óleo mineral Soltrol foram inoculados na primeira folha totalmente expandida das plântulas, após estas terem sido aspergidas com solução aquosa contendo, aproximadamente, duas gotas por litro de Tween 20®. Após 16 horas em câmara úmida na ausência de luz e com saturação de umidade sem escorrimento à temperatura de 20°C, as plântulas foram transferidas para casa-de-vegetação e distribuídas completamente ao acaso, sob condições naturais de luminosidade, umidade relativa na faixa de 60-80% e temperatura de cerca de 22±2°C, tendo, por curtos períodos de tempo, esta atingido 30°C. Juntamente com as plântulas dos acessos *A. tauschii*, foi inoculado, também em fase de plântula, um conjunto da série internacional de linhagens diferenciadas para raças de *P. triticina* (Long & Kolmer, 1989) e a cultivar de trigo Coxilha (testemunha suscetível). O tipo de infecção foi avaliado dez a 15 dias após a inoculação. O método para estimar o tipo de infecção foi o internacionalmente utilizado: 0, ; , 1, 2,

3, 4 (Tabela 2). Tipos de infecção 3 e 4 são considerados altos, correspondendo a suscetibilidade no hospedeiro, e os demais, a resistência (Roelfs *et al.*, 1992).

Dos 40 acessos avaliados, 10 acessos (RL 5003, RL 5491, RL 5496, RL 5497, RL 5528, RL 5531, RL 5550, RL 5665, RL 5771, RL 5793) apresentaram resistência à ferrugem em estágio de plântula, totalizando um percentual de 25% de acessos resistentes (Tabela 1). Estes resultados evidenciam a variabilidade de reação à *Puccinia triticina* dos acessos de *A. tauschii* testados em fase de plântula. A ocorrência de variabilidade genética quanto à reação a doenças tem sido salientada na literatura internacional por vários autores. No Brasil, mais de 700 entradas de várias espécies afins ao trigo foram testadas para resistência a septoriose (Moraes-Fernandes *et al.*, 1980). Diversas espécies mostraram resistência em plântula, mas as entradas de *A. tauschii* foram aquelas que apresentaram melhor nível de resistência à essa moléstia, nesse estágio. Esses dados são concordantes com os resultados aqui relatados. Dessa forma, os acessos de *A. tauschii* que apresentaram resistência em plântula à ferrugem da folha constituem germoplasma valioso para cruzamentos com genótipos de trigo suscetíveis a *Puccinia triticina* a fim de incorporação de resistência genética qualitativa a esses materiais.

As reações dos acessos resistentes variaram de 0 a 1, o que sugere a possibilidade de que os mesmos sejam portadores de genes diferentes. Diversos genes *Lr* foram relatados em *A. tauschii*. Dentre os 57 genes *Lr* conhecidos, os genes *Lr21*, *Lr32*, *Lr39*, *Lr40*, *Lr41*, *Lr42* e *Lr43*, podem estar presentes, uma vez que todos possuem origem em *Ae. tauschii*. Ainda, os acessos que apresentaram reação 3 poderão ser portadores do gene *Lr22a*, que condiciona resistência de planta adulta, a qual apresenta reação de suscetibilidade em fase de plântula. A realização de testes específicos poderá prover informações mais precisas a esse respeito.

O conhecimento do fenótipo da reação do hospedeiro, do número de genes envolvidos em cada reação, do estágio de desenvolvimento da planta em que a resistência se expressa, das interações com o ambiente, dos mecanismos genéticos envolvidos e da combinação das resistências

TABELA 2 - Reação, tipos de infecção e sintomas de *Puccinia triticina* em primeira folha de plântulas de trigo (Adaptado de Roelfs *et al.*, 1992)

Reação ¹	Tipo de infecção	Sintomas
	0	Nenhuma pústula ou outro sinal macroscópico de infecção
R	;	Sem pústulas, com pequenos pontos cloróticos ou necróticos (hipersensibilidade)
	1	Pústulas diminutas, circundadas por clorose/ necrose
	2	Pústulas pequenas a médias, freqüentemente circundadas por clorose ou necrose
S	3	Pústulas médias, que podem estar associadas com clorose
	4	Pústulas grandes, sem clorose

¹R=Resistência; S=Suscetibilidade

qualitativa e quantitativa são aspectos de extrema valia nos programas de melhoramento, porque permitem utilizar os genes disponíveis de forma a obter uma proteção consistente contra o patógeno. Os resultados obtidos neste trabalho indicam que a utilização de *A. tauschii* como fonte de resistência pode ser uma estratégia promissora no controle da ferrugem da folha do trigo. Para que o potencial prático dessa estratégia possa ser avaliado, estudos adicionais para identificar os genes *Lr* presentes nos acessos resistentes, assim como para determinar sua herança, expressão e efeitos da interação entre eles deverão ser realizados. Técnicas de biologia celular e molecular poderão contribuir para o estudo destes fatores de resistência e para a identificação e transferência desses genes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUILAR-RINCÓN, V.H., SINGH, P.R., MOLINA-GALÁN, J.D. & HUERTA-ESPINO, J. Inheritance of resistance to leaf rust in four synthetic hexaploid wheats. *Agrociencia* 34:235-246. 2000.
- ANGRA, D.C., MARTINELLI, P., PRESTES, A.M. & FERNANDES, M.I.B. Haplodiploidização de híbridos intergenéricos via gimnogene. *Brazilian Journal of Genetics* 19(Supl.):124. 1996. (Resumo)
- ASSEFA, S. & FEHRMANN, H. Evaluation of *Aegilops tauschii* Coss. for resistance to wheat stem rust and inheritance of resistance genes in hexaploid wheat. *Genetic Resources and Crop Evolution* 51:663-669. 2004.
- BARBOSA, M.M., PRESTES, A.M. & ANGRA, D.C. *Agropyron* como fonte de resistência à mancha bronzeada do trigo. *Fitopatologia Brasileira* 18:335-347. 1993.
- CHAVES, M. S. & BARCELLOS, A. L. Situação das ferrugens do trigo no Brasil e comportamento das cultivares comerciais em 2000, 2001 e 2002. In: Seminário Internacional Resistencia a Royas en Trigo, 2003, La Estanzuela. Seminário Internacional Resistencia a Royas en Trigo – Resúmenes. La Estanzuela: INIA, p. 2. 2003.
- CHAVES, M.S. & BARCELLOS, A.L. Especialização fisiológica de *Puccinia triticina* no Brasil em 2002. *Fitopatologia Brasileira* 31:57-62. 2006.
- COX, T.S., RAUPP W.J. & GILL, B.S. Leaf rust-resistance genes *Lr41*, *Lr42* and *Lr43* transferred from *Triticum tauschii* to common wheat. *Crop Science* 34:339-343. 1994.
- DYCK, P.L. & KERBER, E.R. Inheritance in hexaploid wheat of adult plant leaf rust resistance derived from *Aegilops squarrosa*. *Canadian Journal of Genetics and Cytology* 12:175-180. 1970.
- GERMAN, S., KOHLI, M.M., CHAVES, M.S., BARCELLOS, A.L. NISI, J., ANNONE, J., MADARIAGA, R. & VIEDMA, L. Breakdown of resistance of wheat cultivars and estimated losses caused by recent changes in the leaf rust population in South America. *Proceedings*, 11^o. International Cereal Rusts & Powdery Mildews Conference, Norwich. 2004. p. 21. (Abstract)
- JONES, S.S., MURRAY, T.D. & ALLEN, R.E. Use of alien genes for the development of disease resistance in wheat. *Annual Review Phytopathology* 33:429-443. 1995.
- KERBER, E.R. Resistance to leaf rust in hexaploid wheat: *Lr32* a third gene derived from *Triticum tauschii*. *Crop Science* 27:204-206. 1987.
- LONG, D.L. & KOLMER, J.A. A North American system of nomenclature for *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*. *Phytopathology* 79:525-529. 1989.
- MORAES-FERNANDES, M.I.B., FERNANDES, J.M.C., PICININI, E.C., AITA, L. & SARTORI, J.F. Transferência de genes de resistência a *Septoria nodorum* (Berk.) de espécies afins para o trigo. *Resumos, Reunião Anual de Pesquisa de Trigo, Porto Alegre, RS. 1980. pp. 130-140.*
- MORAES-FERNANDES, M.I.B. Perspectivas da biotecnologia para o melhoramento de plantas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 22:881-896. 1987.
- MORAES-FERNANDES, M.I.B., ZANATTA, A.C.A., PRESTES, A.M., CAETANO, V.R., BARCELLOS, A.L., ANGRA, D.C. & PANDOLFI, V. Cytogenetics and immature embryo culture at Embrapa Trigo breeding program: transfer of disease resistance from related species by artificial resynthesis of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L. em Thell). *Genetics and Molecular Biology* 23:1051-1062. 2000.
- NELSON, R. R. Introduction. In: Nelson, R.R. (Ed.) *Breeding Plants for Disease Resistance*. Pennsylvania PA. The Pennsylvania State University Press. 1973a. pp. 3-12.
- NELSON, R.R. The meaning of disease resistance in plants. In: Nelson, R.R. (Ed.) *Breeding Plants for Disease Resistance*. Pennsylvania PA. The Pennsylvania State University Press. 1973b. pp. 13-25.
- PRIESTLEY, R.H. & BAYLES, R.A. The contribution and value of resistant cultivars to disease control in cereals. In: Clifford, B.C. & Lester, E. (Eds.) *Control of Plant Diseases: Costs and Benefits*. Oxford UK. Blackwell Scientific Publications. 1988. pp. 53-65.
- REIS, E.M., CASA, R.T. & FORCELINI, C.A. Relação entre a severidade e a incidência da ferrugem da folha do trigo, causada por *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*. *Fitopatologia Brasileira* 21:369-372. 1996.
- ROELFS, A.P., SINGH, R.P. & SAARI, E.E. *Rust Diseases of Wheat: Concepts and methods of disease management*. Mexico, D. F. CIMMYT. 1992.
- ROWLAND, G.G. & KERBER, E.R. Telocentric mapping in hexaploid wheat of genes for leaf rust resistance and other characters derived from *Aegilops squarrosa*. *Canadian Journal of Genetics and Cytology* 16:137-144. 1974.
- STEPIÉN, L., GOLKA, L. & CHELKOWSKI, J. Leaf rust resistance genes of wheat: identification in cultivars and resistance sources. *Journal Applied Genetics* 44:139-149. 2003.
- ZAHARIEVA, M., MONNEVEUX, P., HENRY, M., RIOVAL, R. & VALKOUN, J. Evaluation of a collection of wild wheat relative *Aegilops geniculata* Roth and identification of potential sources for useful traits. *Euphytica* 119:33-38. 2001.

Recebido 4 Setembro 2006 - Aceito 27 Julho 2007 - FB 6095