

## **INFILTRAÇÃO DA TOXINA PTRTOXA EM PLÂNTULAS DE TRIGO, VISANDO O SCREENING DE CULTIVARES COM PRESENÇA/AUSÊNCIA DO GENE DE SENSIBILIDADE TSN1.**

Flávio Martins Santana<sup>1</sup>, Cheila Cristina Sbalcheiro<sup>1</sup>, Caroline Moffat<sup>2</sup>, Richard Oliver<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Embrapa Trigo. Passo Fundo, RS. E-mail: flavio.santana@embrapa.br, <sup>2</sup>Crop and Disease Management (CCDM – Curtin University). Bentley, Australia.

A mancha amarela do trigo é uma doença foliar de ocorrência mundial. O agente causal é *Pyrenophora tritici-repentis*, um fungo necrotrófico, cuja forma imperfeita é *Drechslera tritici-repentis*. É uma doença de ampla distribuição, desde a Argentina, na América do Sul, até o Canadá, na América do Norte. Em outros continentes, está presente na Austrália e em diversos países europeus. É uma doença associada ao sistema de plantio direto, amplamente utilizado no Brasil. O agente patogênico utiliza uma toxina seletiva ao hospedeiro (HST- Host Selective Toxin), que age sobre o tecido foliar, causando necrose e/ou clorose, que propicia a colonização pelo fungo, resultando em lesões elípticas, que são características da doença. Este patógeno, em particular, segue um modelo gene-a-gene inverso, onde a presença do gene de sensibilidade no hospedeiro na presença da toxina do patógeno causa a lesão foliar beneficiando (favorecendo) a infecção pelo patógeno (Moreno et al., 2012, Havis, 2011, Jørgensen e Olsen, 2007, Andrie et al., 2007, Colson et al, 2003).

No Brasil, a mancha amarela é uma das doenças mais importantes que afetam a produção de trigo, particularmente devido à capacidade do agente patogênico em sobreviver colonizando os restos culturais entre uma estação de cultivo e outra. Por este motivo é fundamental que no plantio direto, adotado no Brasil há mais de 30 anos, seja praticada a rotação de culturas, para quebrar o ciclo do patógeno, que é capaz de germinar numa vasta gama de temperaturas, o que provavelmente explica em parte a distribuição dessa doença pelo mundo, em climas muito diversos (TONIN et al., 2014, Prestes et al., 2002, Santos et al., 2000). Diversos relatos têm sido feitos sobre falhas no controle dessa doença. Adicionalmente, muitas cultivares, com boas características agronômicas, não

possuem níveis de resistência suficiente para evitar grandes prejuízos, que podem chegar a 70 % de perda no rendimento (Moreno et al., 2012). Uma caracterização, tanto do patógeno, quanto do hospedeiro, se faz necessária para a criação de cultivares com melhores níveis de resistência e, conseqüentemente, redução do número de aplicações de fungicidas.

Os sintomas dessa doença vão desde pontos escuros à necrose generalizada. Uma série diferencial de cultivares de trigo foi padronizada, com o objetivo de identificar raças do patógeno em função dos sintomas produzidos, que variam com a cultivar e sua respectiva sensibilidade às toxinas do patógeno (Figura 2). Três toxinas estão associadas ao processo de infecção do hospedeiro por *P. tritici-repentis*, tendo elas sido isoladas, caracterizadas e denominadas PtrToxA, PtrToxB, e Ptr ToxC. Dependendo da raça, uma ou mais toxinas são produzidas, induzindo os sintomas de necrose, de clorose, ou ambos. Assim, desenvolveu-se um sistema de identificação e classificação de isolados de *P. tritici-repentis* em diferentes raças. Por este método é possível separar *P. tritici-repentis* em oito raças, uma vez que a combinação de genes é 2x2x2 (Andrie et al., 2007 Lamari et al., 2003). Essas toxinas, chamadas HST (Host-Selective Toxin - Toxina seletiva de hospedeiro) não são consideradas como fatores de patogenicidade. A sensibilidade para os genes dessas toxinas segue um modelo inverso do modelo gene-para-gene, o que significa que a presença do gene correspondente (receptor) no hospedeiro provoca uma reação de sensibilidade à toxina. Assim, a toxina age como um fator de virulência. A PtrToxA, por exemplo, corresponde a 24% da resistência à doença (Singh et al., 2012).

Uma forma relativamente rápida de identificar grupos de cultivares/linhagens com algum nível de resistência à mancha amarela é por meio da sensibilidade a essas toxinas. Atualmente é possível, por meio de infiltração de uma das HSTs em folhas jovens de trigo, realizar uma seleção de genótipos que não carregam os genes que conferem sensibilidade específica à toxina. Um desses genes é Tsn1, que cuja proteína reconhece PtrToxA, resultando em desenvolvimento de necrose e, conseqüentemente, maior suscetibilidade à mancha amarela (Antoni et al., 2010, Ciuffetti et al., 2010, Noriel et al., 2011).

Em 2016 foi iniciado na Embrapa Trigo uma parceria com pesquisadores da Curtin University, na Austrália, buscando introduzir nova metodologia para screening de cultivares e linhagens de trigo, visando a resistência à mancha amarela, sendo este o objetivo deste trabalho.

A toxina PtrToxA foi fornecida pelo parceiro, desidratada e acondicionada em tubos de 1,5ml. A toxina foi ressuspensa em H<sub>2</sub>O MilliQ e utilizada para infiltração em 26 cultivares de trigo, mais 5 cultivares controle (Tabela 1). Para a infiltração foram utilizadas seringas descartáveis, sem agulha.

Três dias após a inoculação procedeu-se à avaliação, onde foram observados sintomas apenas nas cultivares controle que possuíam o gene Tsn1, correspondente à reação de sensibilidade a PtrToxA (Figura 1)

Em experimentos anteriores as cultivares que tem apresentado menor área de lesão na folha, quando inoculados com isolado de *P. tritici-repentis* são: BRS Marcante, BRS Parrudo, Estrela Átria, LG Oro, TBIO Pioneiro, TEC Frontale e Topázio.

Os dados obtidos demonstram, de forma preliminar, que a maioria das cultivares de trigo brasileiras não possui o gene de sensibilidade Tsn1 e que esta é uma metodologia simples, rápida e efetiva, para a realização de screening de linhagens de trigo nos programas de melhoramento.



**Figura 1** – Cultivar testemunha (ou controle) Glenlea portadora do gene Tsn1 Glenlea com reação de sensibilidade (esquerda) comparado ao controle, onde houve infiltração com H<sub>2</sub>O (direita)

**Tabela 1** – Cultivares utilizadas no experimento de infiltração da toxina de *P. tritici-repentis* (PtrToxA). Passo Fundo, 2017.

Identificação	Cultivar	Tratamento	Reação	Tratamento	Reação
1	Ametista	PtrToxA	I	H2O	-
2	BRS 331				
3	BRS Marcante	PtrToxA	I	H2O	-
4	BRS Parrudo	PtrToxA	I	H2O	-
5	BRS Reponte	PtrToxA	I	H2O	-
6	Celebra	PtrToxA	I	H2O	-
7	Esporão	PtrToxA	I	H2O	-
8	Estrela Atria	PtrToxA	I	H2O	-
9	Jadeite	PtrToxA	I	H2O	-
10	LG Oro	PtrToxA	I	H2O	-
11	Marfim	PtrToxA	I	H2O	-
12	Mirante	PtrToxA	I	H2O	-
13	ORS Vintecinco	PtrToxA	I	H2O	-
14	Quartzo	PtrToxA	I	H2O	-
15	Tbio Alvorada	PtrToxA	I	H2O	-
16	Tbio Iguaçu	PtrToxA	I	H2O	-
17	Tbio Itaipu	PtrToxA	I	H2O	-
18	Tbio Mestre	PtrToxA	I	H2O	-
19	Tbio Pioneiro	PtrToxA	I	H2O	-
20	Tbio Sintonia	PtrToxA	I	H2O	-
21	Tbio Sinuelo	PtrToxA	I	H2O	-
22	Tbio Tibagi	PtrToxA	I	H2O	-
23	Tbio Toruk	PtrToxA	I	H2O	-
24	TEC 10	PtrToxA	I	H2O	-
25	TEC Frontale	PtrToxA	I	H2O	-
26	Topázio	PtrToxA	I	H2O	-
Controle (-)	Glenlea	PtrToxA	S	H2O	-
Controle (-)	Katepwa	PtrToxA	S	H2O	-
Controle (-)	Salamouni	PtrToxA	I	H2O	-
Controle (-)	6B 365	PtrToxA	I	H2O	-
Controle (+)	ND 495	PtrToxA	S	H2O	?

I = insensível à PtrToxA; S = sensível à PtrToxA; ( - ) = reação negativa