

**Resistência de Híbridos de Sorgo
Prevista por Meio de Estrutura de
Virulência de *C. sublineolum* em
Linhagens Genitoras**



ISSN 1679-0154
Outubro, 2013

**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Milho e Sorgo
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 71

Resistência de Híbridos de Sorgo Prevista por Meio de Estrutura de Virulência de *C. sublineolum* em Linhagens Genitoras

Dagma Dionísia da Silva
Luciano Cota Viana
Rodrigo Vêras da Costa
José Avelino Santos Rodrigues
Carlos Roberto Casela
Hilário Antônio de Castro

Embrapa Milho e Sorgo
Sete Lagoas, MG
2013

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Milho e Sorgo

Rod. MG 424 Km 45
Caixa Postal 151
CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG
Fone: (31) 3027-1100
Fax: (31) 3027-1188
Home page: www.cnpms.embrapa.br
E-mail: cnpms.sac@embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Sidney Netto Parentoni
Secretário-Executivo: Elena Charlotte Landau
Membros: Dagma Dionísia da Silva, Paulo Eduardo de Aquino Ribeiro,
Monica Matoso Campanha, Maria Marta Pastina, Rosângela Lacerda
de Castro e Antonio Claudio da Silva Barros.

Revisão de texto: Antonio Claudio da Silva Barros
Normalização bibliográfica: Rosângela Lacerda de Castro
Tratamento de ilustrações: Tânia Mara Assunção Barbosa
Editoração eletrônica: Tânia Mara Assunção Barbosa
Foto(s) da capa: Dagma Dionísia da Silva

1ª edição

1ª impressão (2013): on line

Todos os direitos reservados

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Milho e Sorgo**

Resistência de híbridos de sorgo prevista por meio de estrutura
de virulência de *C. sublineolum* em linhagens genitoras /
Dagma Dionísia da Silva ... [et al.]. – Sete Lagoas : Embrapa
Milho e Sorgo, 2013.

32 p. : il. -- (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento /
Embrapa Milho e Sorgo, ISSN 1679-0154; 71).

1. Doença de planta. 2. Antracnose. 3. *Sorghum bicolor*. 4.
Variedade resistente. I. Silva, Dagma Dionísia da. II. Série.

CDD 632.4 (21. ed.)

Sumário

Introdução	4
Metodologia	6
Resultados e Discussão	13
Conclusões	27
Agradecimentos	27
Referências	28

Resistência de Híbridos de Sorgo Prevista por Meio de Estrutura de Virulência de *C. sublineolum* em Linhagens Genitoras

*Dagma Dionísia da Silva*¹

*Luciano Cota Viana*²

*Rodrigo Vêras da Costa*³

*José Avelino Santos Rodrigues*⁴

*Carlos Roberto Casela*⁵

*Hilário Antônio de Castro*⁶

Introdução

A antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum sublineolum* Henn., é a doença mais severa da cultura do sorgo no Brasil e está presente em todas as regiões de plantio desta gramínea no país. A doença causa perdas significativas à produção, especialmente quando ocorrem condições de alta umidade associadas a temperaturas elevadas. O seu controle é fundamental para permitir a expansão da área de plantio com a cultura no país e é considerado prioritário pela indústria de produção de sementes, uma vez que as perdas na produtividade podem ser superiores a 80% e afetar drasticamente a qualidade das sementes. O método mais utilizado para o controle da doença é a utilização de cultivares resistentes. Porém, a alta variabilidade apresentada pelo

¹Eng. Agr., Fitopatologia, Embrapa Milho e Sorgo, Cx.P.151. 35701-970, Sete Lagoas, MG, dagma.silva@embrapa.br

²Eng. Agr., Fitopatologia, Embrapa Milho e Sorgo, luciano.cota@embrapa.br

³Eng. Agr., Fitopatologia, Embrapa Milho e Sorgo, rodrigo.veras@embrapa.br

⁴Eng. Agr., Melhoramento, Embrapa Milho e Sorgo, avelino.rodrigues@embrapa.br

⁵Eng. Agr., Fitopatologia, Pesquisador aposentado Embrapa Milho e Sorgo

⁶Eng. Agr., Fitopatologia.

patógeno, a qual possibilita sua rápida adaptação às variedades e aos híbridos comerciais resistentes pelo surgimento de novas formas de virulência em sua população, é ainda um desafio para os melhoristas e fitopatologistas (SILVA et al., 2008; GUIMARÃES et al., 1999; CASELA et al., 1998; CASELA; FERREIRA, 1987). Embora existam, no mercado, fungicidas eficientes para o controle da antracnose, não existe no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento registro destes para o controle de doenças foliares na cultura do sorgo (AGROFIT, 2003; COTA et al., 2011; COSTA et al., 2009), o que torna a resistência genética a principal forma de controle da doença. No entanto, a resistência nem sempre é durável e existe a dificuldade de se saber até quando esta se manterá após a liberação do híbrido no mercado.

Considera-se a resistência como durável quando uma cultivar amplamente plantada em ambiente favorável mantém-se resistente a um determinado patógeno por um longo período de tempo (ADUGNA, 2004; CRUTE; PINK, 1996; CASELA; FERREIRA, 1987). A resistência a patógenos pode ser durável por diversas razões, e entre os fatores que podem influenciar na resistência podem-se incluir o sistema de cultivo utilizado, a herança da durabilidade dessa resistência, a variabilidade na população do patógeno, o ciclo de vida do hospedeiro e do patógeno, o tamanho da população do patógeno, fatores epidemiológicos e a forma de utilização de genes de resistência (ADUGNA, 2004; PARLEVIET, 1993).

Diante do exposto, é importante que, além de se conhecer a estrutura populacional do patógeno, sejam identificadas combinações de genótipos de sorgo para as quais a virulência não esteja associada na população do patógeno e implique

um custo à sua capacidade de sobrevivência (VANDERPLANK, 1984; ALEXANDER et al., 1984; BROWDER; EVERSMEYER, 1977; LEBEDA, 1981). Esta seria uma forma de prever se duas linhagens apresentam potencial para a geração de híbridos com resistência em diferentes locais e se há possibilidade de superação da resistência por causa da existência de raças presentes nas populações do patógeno.

Os objetivos deste trabalho foram avaliar a reação de linhagens-élites de sorgo a diferentes populações de *C. sublineolum* e identificar combinações de linhagens restauradoras e macho-estéreis capazes de gerar híbridos de alta resistência à antracnose.

Metodologia

Os experimentos foram conduzidos na Embrapa Milho e Sorgo, localizada em Sete Lagoas, MG, no período de julho de 2004 a dezembro de 2005. Foram avaliadas 10 linhagens-élites do programa de melhoramento genético de sorgo da Embrapa Milho e Sorgo, as quais foram inoculadas com 289 isolados monospóricos de *C. sublineolum* amostrados nos estados de Minas Gerais (Sete Lagoas, Uberlândia e Ipiacaçu), Goiás (Goiânia e Palmeira de Goiás) e São Paulo (Jardinópolis). Híbridos gerados por tais linhagens foram também avaliados quanto à reação a 19 isolados após a caracterização da estrutura de virulência nas linhagens. As linhagens e seus cruzamentos estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1. Linhagens restauradoras (R) e macho-estéreis (A) e os respectivos híbridos gerados pelos cruzamentos de A e R.

Restaura- doras	Macho-estéreis ²				
	ATF8A	ATF14A	ATF54A	CMSXS206A	9409131A
BR012R	0009060 ³	0009061	BRS 310	0226001	BRS 308
CMSXS180R	BRS332	BRS330	9920038	0304023	9920008
CMSXS182R	0021059	0021060	0021054	0227003	9817026
9910032R	0144013	0144015	0144007	0306034	0306004

1/ As restauradoras correspondem aos machos e são designadas pela letra R.

2/ As macho-estéreis correspondem às fêmeas e são designadas pela letra A. Nas avaliações foram utilizadas as linhagens mantenedoras (B).

3/ Os híbridos (centro da tabela) foram gerados pelo cruzamento das linhagens A e R.

Para obtenção dos isolados monospóricos, fragmentos de folhas apresentando sintomas da doença foram esterilizados superficialmente por 2 a 3 minutos em solução de hipoclorito de sódio a 0,5% e plaqueados em meio de Farinha de aveia-agar (FAA). As placas foram, em seguida, incubadas sob luz fluorescente contínua à temperatura de 25 °C por 7 a 8 dias. Seguiu-se uma raspagem superficial para a eliminação do crescimento micelial da colônia, 5 dias após o isolamento, para a indução de abundante esporulação. Sete dias após, os conídios foram coletados por meio do corte de fragmentos do meio de cultura e transferidos para tubos de ensaio contendo 9 mL de água destilada e esterilizada, seguindo-se uma diluição em série até atingir 10⁻⁴. Em seguida, 1 mL da suspensão obtida foi distribuído em 3 placas de Petri contendo agar-água (AA) a 2%, a qual foi incubada a 25 °C, por 12 horas, para a indução de germinação. Culturas monospóricas foram, então, obtidas por meio da coleta de um conídio ao microscópio de luz. O conídio foi coletado pelo corte de um fragmento

correspondente ao foco de luz do microscópio com peça desenvolvida especificamente para este fim. Os isolados, depois de transferidos para tubos de ensaio contendo FAA, foram incubados sob luz contínua por aproximadamente 7 dias, quando adicionou-se óleo mineral para conservação deles até o momento de uso. Foram obtidos 289 isolados monospóricos, sendo 50 de Sete Lagoas, 50 de Uberlândia, 54 de Ipiaçu, 47 de Goiânia, 69 de Jardinópolis e 19 de Palmeira de Goiás.

Para a produção e o preparo do inóculo, os isolados monospóricos foram transferidos do óleo mineral para placas de Petri com meio FAA e mantidos sob luz fluorescente contínua por 7 a 8 dias. Para indução de abundante esporulação, realizou-se raspagem superficial aos 5 dias de crescimento e, após 5 a 6 dias, os isolados foram repicados para placas contendo meio de aveia. O mesmo procedimento foi adotado para as placas contendo o fungo em crescimento para a indução da esporulação necessária para preparo de inóculo. Cinco dias depois, as placas de cada isolado foram inundadas com água destilada, seguindo-se uma raspagem superficial com uma espátula para a liberação de conídios e posterior contagem em câmara de Neubauer. A suspensão de inóculo foi padronizada para 10^6 conídios/mL.

As linhagens e os híbridos foram inoculados aos 28 dias após o plantio com a suspensão de esporos do patógeno na proporção de 10 mL/vaso. Após a inoculação, as plantas foram mantidas em câmara úmida por 18 horas, a uma temperatura média de 25 °C. Os tratamentos foram delineados em parcelas subdivididas com os isolados nas parcelas e as cultivares nas subparcelas, com 3 repetições. Em cada vaso foram mantidas de quatro a cinco plantas. As plantas foram avaliadas para o tipo de

infecção aos 12 dias após a inoculação, utilizando-se uma escala de notas com valores de 1 a 5, conforme Cardwel et al. (1989), em que: 1 - presença de pequenas pontuações necróticas; 2 - presença de pequenas manchas avermelhadas; 3 - lesões necróticas, algumas vezes alongadas, mas sem a presença de esporulação; 4 - lesões necróticas com a presença de acérvulos no centro e 5 - lesões necróticas, algumas vezes coalescidas, com a presença de abundante esporulação. Duas classes de reação foram consideradas: R = reação de resistência (incluindo as notas 1, 2 e 3) e S = reação de suscetibilidade (incluindo as notas 4 e 5).

As notas foram transformadas para o tipo de reação (susceptível ou resistente) e designaram raças, segundo Nietsche et al. (2001) (dados publicados em SILVA et al.; 2008). Foi realizada uma análise da estrutura de virulência da população e a identificação de associações de patogenicidade e de virulência nas populações do patógeno (BROWDER; EVERSMEYER, 1977; LEBEDA, 1981).

As linhagens foram inoculadas com os 289 isolados citados anteriormente e, para inoculação dos híbridos, foram selecionados 19 isolados correspondentes às raças mais frequentes em cada um dos locais amostrados, as mais virulentas e outras de menor frequência e virulência, segundo dados de Silva et al. (2008).

As frequências de virulência foram calculadas para cada linhagem, em cada localidade, dividindo-se o número de isolados virulentos a um determinado genótipo, pelo número total de isolados amostrados na localidade. Para detectar a ocorrência de virulência associada ou dissociada a duas

linhagens a e b, componentes da série diferencial, os isolados inoculados foram classificados em uma das quatro possíveis categorias de avirulência ou virulência: VaVb, isolado virulento à linhagem a e b; VaAb, isolado virulento à linhagem a e avirulento à linhagem b; AaAb, isolado avirulento a ambas as linhagens; e AaVb, isolado avirulento à linhagem a e virulento à linhagem b. Baseando-se nestes dados, foram calculadas as frequências, esperada e observada, de cada uma das quatro categorias de virulência e avirulência descritas acima. As frequências esperada e observada, em cada categoria, foram comparadas por meio do teste X^2 (LEBEDA, 1981), utilizando-se o programa Genes, desenvolvido por Cruz (2006). Uma associação positiva de virulência ocorre quando os valores observados significativamente excedem os esperados nas categorias VaVb e AaAb e uma associação negativa ocorre quando os valores observados são significativamente inferiores aos esperados nas mesmas categorias (CASELA et al., 1998; ALEXANDER et al., 1984).

As associações de patogenicidade e de virulência foram calculadas para cada combinação de linhagens a e b da série diferencial, por meio de coeficiente de associação de patogenicidade (CAP) e um coeficiente de associação de virulência (CAV) conforme as seguintes expressões (BROWDER; EVERSMEYER, 1977).

$CAP = \frac{\text{número de isolados AaAb} + \text{número de isolados VaVb}}{\text{número total de isolados}}$,

$CAV = \frac{\text{número de isolados VaVb}}{\text{número total de isolados}}$.

Valores de CAP e CAV muito próximos entre si indicam alta proporção de isolados com virulência associada às duas linhagens, enquanto altos valores de CAP e baixos valores

de CAV indicam que a maioria dos isolados na população não possui virulência associada às duas linhagens a e b. A diferença entre CAP e CAV de um dado par de linhagens, indica a frequência da população do patógeno que tem avirulência a ambas as linhagens. A diferença entre 1 e o valor de CAP ($1 - \text{CAP}$) indica a porção da população que ataca uma ou outra das duas linhagens.

As linhagens e híbridos foram também avaliados em condições de campo, em locais de ocorrência de severas epidemias da antracnose. As linhagens foram avaliadas no campo experimental da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, e no campo experimental da Embrapa Arroz e Feijão, Goiânia, GO, e os híbridos também em Jataí, GO, na área experimental da Universidade Federal de Goiás, Campus Jataí, e em Jardinópolis, SP, na Unidade de Pesquisa da Dow AgroSciences. Em Sete Lagoas, Goiânia e Jardinópolis, as parcelas foram constituídas de quatro fileiras de 5 m de comprimento, com espaçamento entre linhas de 0,70 m e densidade de plantas de 8 plantas/m linear de sulco e, em Jataí, as parcelas foram constituídas de fileiras de 5 m de comprimento e espaçamento entre linhas de 0,50 m, com densidade de plantas de 8 plantas/m linear de sulco.

Transversalmente a cada parcela, foi plantada uma fileira de 1 m de comprimento com a cultivar suscetível BR 009 e outra com a linhagem resistente SC283 na extremidade contrária da parcela. Para evitar a disseminação lateral da doença, as parcelas foram isoladas entre si por fileiras da cultivar resistente SC283 e os blocos, por fileiras de milho.

Em Jardinópolis, foi realizada inoculação artificial com uma mistura de 11 isolados amostrados nesta localidade. O inóculo foi preparado de acordo com as metodologias anteriores de preparo e produção de inóculo utilizados neste trabalho. A inoculação foi feita somente na linhagem suscetível BR 009, que serviu como fonte de inóculo, com pulverizador costal, consumindo 15 litros da suspensão para cobrir as plantas.

Em Jardinópolis, Jataí e Goiânia foi realizada uma única avaliação da severidade, aos 100 dias após o plantio, em três pontos de cada subparcela localizados no início, meio e final das linhas. Em Sete Lagoas, foram realizadas avaliações semanais com início aos 90 dias após o plantio. Em cada parcela, seis plantas foram selecionadas e marcadas com fita de plástico ao longo da linha de plantio, também em pontos no início, meio e final das linhas. Todas as folhas das plantas selecionadas foram avaliadas individualmente em um total de 4 avaliações. Utilizou-se a escala diagramática de severidade de doença de Sharma (1983).

Os dados de severidade da doença obtidos em Sete Lagoas foram transformados em valores de área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), pelo programa AVACPD, desenvolvido por Torres e Ventura (1991), no Departamento de Fitopatologia, da Universidade Federal de Viçosa, com base na equação:

$$AACPD = \sum_1^{n-1} [(Y_{i+1} + Y_i)/2] (t_{i+1} - t_i)$$

em que: Y_i é a severidade de doença na i -ésima observação;

t_i é o tempo em dias na i -ésima observação e n é o número de observações (SHANNER; FINNEY, 1977).

Os dados de severidade e de AACPD foram submetidos à análise de variância e teste de médias (Tukey), utilizando-se o programa Sisvar (FERREIRA, 2007).

Resultados e Discussão

A combinação das linhagens avaliada por meio do Coeficiente de associação de patogenicidade e pelo Coeficiente de associação de virulência, CAP e CAV, respectivamente, apresentou variações entre os locais e nas combinações de linhagens. Para isolados amostrados em Uberlândia, as maiores diferenças entre CAP e CAV foram observadas entre as linhagens macho-estéreis ATF8A, ATF14A e 9409131A, em combinação com as restauradoras BR012R e CMSXS180R e entre ATF8A com a restauradora 9910032R. Em Ipiaçu, todas as combinações apresentaram valores aproximados entre CAP e CAV, sendo observadas tanto combinações com altos CAP e CAV quanto valores baixos para ambos. Valores próximos para CAP e CAV são indicativos de que estas combinações não oferecem potencial para gerar híbridos com resistência aos isolados prevalentes neste local (Tabela 2).

Tabela 2. Coeficientes de associação de patogenicidade e virulência a *C. sublineolum*, em 20 combinações entre linhagens A e R, estimados em seis localidades.

Combinação de linhagens	Local / coeficientes											
	Sete Lagoas		Uberlândia		Ipiaçú		Goiânia		P. de Goiás		Jardínópolis	
	CAP	CAV	CAP	CAV	CAP	CAV	CAP	CAV	CAP	CAV	CAP	CAV
BR012R x ATF8A	0,70	0,62	0,38	0,22	0,22	0,20	0,60	0,60	0,32	0,26	0,54	0,04
BR012R x ATF14A	0,68	0,60	0,42	0,24	0,24	0,22	0,66	0,66	0,42	0,37	0,58	0,07
BR012R x ATF54A	0,92	0,88	0,80	0,70	0,70	0,70	0,87	0,87	0,79	0,74	0,30	0,19
BR012R x CMSXS206A	0,56	0,48	0,52	0,42	0,46	0,46	0,83	0,83	0,10	0,05	0,30	0,14
BR012R x 9409131A	0,58	0,50	0,42	0,20	0,06	0,06	0,34	0,34	0,16	0,11	0,29	0,10
CMSXS180R x ATF8A	0,62	0,62	0,40	0,28	0,20	0,20	0,62	0,60	0,37	0,26	0,41	0,33
CMSXS180R x TF14A	0,60	0,60	0,40	0,28	0,22	0,22	0,68	0,66	0,47	0,37	0,36	0,32
CMSXS180R x TF54A	0,92	0,92	0,88	0,80	0,72	0,72	0,89	0,87	0,74	0,68	0,85	0,83
CMSXS180R x CMSXS206A	0,54	0,54	0,62	0,52	0,48	0,48	0,85	0,83	0,16	0,05	0,75	0,73
CMSXS180R x 9409131A	0,50	0,50	0,42	0,20	0,07	0,07	0,36	0,34	0,26	0,16	0,74	0,68
CMSXS182R x ATF8A	0,66	0,60	0,38	0,24	0,24	0,20	0,70	0,57	0,32	0,26	0,51	0,33
CMSXS182R x ATF14A	0,64	0,58	0,38	0,24	0,26	0,22	0,77	0,64	0,42	0,37	0,51	0,33
CMSXS182R x ATF54A	0,92	0,88	0,78	0,72	0,69	0,69	0,81	0,77	0,79	0,74	0,80	0,74
CMSXS182R x CMSXS206A	0,62	0,54	0,46	0,40	0,52	0,48	0,72	0,70	0,11	0,05	0,74	0,67
CMSXS182R x 9409131A	0,50	0,46	0,38	0,20	0,11	0,07	0,45	0,32	0,21	0,16	0,68	0,61
9910032R x ATF8A	0,64	0,62	0,42	0,28	0,30	0,20	0,64	0,60	0,32	0,26	0,42	0,33
9910032R x ATF14A	0,62	0,60	0,38	0,26	0,28	0,20	0,70	0,66	0,41	0,37	0,41	0,33
9910032R x ATF54A	0,94	0,92	0,90	0,80	0,63	0,63	0,87	0,85	0,79	0,74	0,85	0,81
9910032R x CMSXS206A	0,56	0,54	0,68	0,54	0,50	0,44	0,87	0,83	0,11	0,05	0,74	0,71
9910032R x 9409131A	0,52	0,50	0,34	0,20	0,17	0,07	0,34	0,32	0,21	0,16	0,70	0,65

Em Palmeira de Goiás, as maiores diferenças entre CAP e CAV foram obtidas nas combinações entre as linhagens restauradoras e a linhagem CMSXS 206A. O baixo CAV foi determinado, entretanto, pela menor frequência de virulência a esta linhagem (Tabela 2), já que os valores de CAP foram também baixos. As outras combinações apresentaram valores de CAP e CAV bem próximos entre si, indicando a ocorrência de uma maior proporção de isolados na população com virulência associada às duas linhagens utilizadas nas combinações (Tabela 2). Duas combinações com altos valores de CAP e baixos valores de CAV foram identificadas em Jardinópolis, entre a restauradora BR 012R e as macho-estéreis ATF8A e ATF14A. As combinações dessas mesmas linhagens macho-estéreis e CMSXS182R apresentaram diferenças relativamente altas entre CAP e CAV (0,51 e 0,33, respectivamente), para as duas combinações (Tabela 2).

Em Sete Lagoas, a combinação entre os dois coeficientes variou de intermediário a altos, e eles sempre foram próximos entre si. Isto significa que, neste local, os isolados possuem virulência associada entre as linhagens e que, provavelmente, o cruzamento entre tais linhagens gerarão híbridos suscetíveis aos isolados presentes neste local (Tabela 2).

A seleção de combinações de linhagens de sorgo, por meio dos coeficientes de associação de patogenicidade e de virulência, é uma alternativa como estratégia para a obtenção de resistência durável a *C. sublineolum*. De acordo com Browder e Eversmeyer (1977), combinações com alto CAP e baixo CAV são capazes de, potencialmente, gerar híbridos com resistência de alta durabilidade. Tais combinações podem, portanto, ser úteis na geração de híbridos resistentes à população de *C.*

sublineolum, predominante nesta localidade. Segundo os citados autores, combinações com altos valores de CAP e altos valores de CAV não têm, por outro lado, combinações capazes de gerar resistência de alta durabilidade, pois a maior proporção da população patogênica já é capaz de infectar ambas as linhagens. Partindo-se desta afirmativa, pode-se supor, de acordo com os resultados deste trabalho, que nenhum híbrido gerado pelas combinações entre as linhagens R e a linhagem ATF54A seria potencialmente resistente a *C. sublineolum*. Muitas combinações apresentaram baixos valores para CAP e CAV, simultaneamente. Neste caso, os híbridos resultantes teriam a sua resistência atribuída a apenas uma das linhagens componentes do cruzamento.

A ocorrência de associações positivas de virulência observada neste trabalho já havia sido observada anteriormente por Casela e Ferreira (1995) e Silva et al. (2008). Segundo estes autores, este fato pode ser determinado, pelo menos em parte, pela ausência de processos sexuais em *C. sublineolum* em sorgo. Neste caso, determinadas combinações de genes de virulência podem permanecer na população, ainda que estes genes não estejam necessariamente ligados (WOLFE; KNOTT, 1982).

A análise da estrutura de virulência das populações de *C. sublineolum* amostradas indicou a ocorrência de virulência associada às combinações entre linhagens R e A, o que foi confirmado estatisticamente pelo teste Qui-quadrado a 5% de probabilidade (dados não apresentados). Baseando-se neste fato, pode-se prever que tais combinações não são recomendadas para a geração de híbridos com resistência à antracnose nestas localidades.

As FVs dos isolados às linhagens foram, em sua maioria, semelhantes entre si, nos seis locais amostrados. Variações entre locais ocorreram para algumas linhagens, por exemplo, a BR012R, que apresentou frequência de virulência alta em todos os locais, com exceção de Jardinópolis. As demais linhagens restauradoras apresentaram alta FV em todas as localidades, com pequena variação nos valores. (Figura 1A). Para as linhagens macho-estéreis, valores mais baixos de FV foram observados em todas as localidades, com a exceção de ATF54A, e para CMSXS206A, que apresentou valores intermediários para FV em quatro locais e baixas FVs em Palmeira de Goiás (0,10) e Sete Lagoas (0,38) (Figura 1A).

Altas FVs foram apresentadas por CMSXS180R e CMSXS182R em todos os locais, o que difere do observado por Casela et al. (1998), que verificaram uma alta resistência destas linhagens às populações de *C. sublineolum* predominantes em Sete Lagoas, MG, Pelotas, RS, e Jataí, GO. Entretanto, uma associação positiva de virulência entre estas linhagens e a linhagem CMSXS217A já havia sido observada.

Avaliações em campo, em Sete Lagoas e Goiânia, mostram que embora haja variação no nível de resistência entre as linhagens, nenhuma se apresentou como totalmente resistente à doença (Figuras 2A e 2B). Estes dados, juntamente com a análise da frequência de virulência (FV) dos isolados e a avaliação dos híbridos em campo reforçam os resultados obtidos por meio de CAP e CAV, quanto ao baixo potencial das combinações entre as linhagens avaliadas na geração de híbridos com resistência.

Quando se avaliou a reação dos híbridos a 19 padrões de virulência de *C. sublineolum*, verificou-se que as menores

frequências de virulência foram apresentadas por BRS 308, 9920008, 0306004, 9817026 (Figura 1B). Estes híbridos foram gerados pela combinação da linhagem 9409131A com as restauradoras, BR012R, CMSXS180R, 9910032R e CMSXS182R, respectivamente. A linhagem 9409131A apresentou baixas FVs quando inoculada com os isolados de diferentes locais, enquanto as restauradoras, com pequenas exceções já mostradas, apresentaram altas FVs aos isolados de seis locais. Quando se avalia CAP e CAV, observa-se que os valores para esta linhagem em combinação com as restauradoras ficaram entre médios e muito baixos, e próximos entre si. Provavelmente, a linhagem 9409131A possui um ou mais genes fortes de resistência com capacidade de controlar a doença, pois, mesmo suas combinações com linhagens suscetíveis e valores de CAP intermediários, geraram os híbridos com menor frequência de virulência.

O híbrido 9920008 foi resistente a doze padrões de virulência testados em casa de vegetação, dentre as quais estão os mais frequentes em três locais avaliados e os de baixa frequência ou ausentes na população (dados apresentados por SILVA et al.; 2008). Em avaliações de campo, este híbrido apresentou baixa severidade em Sete Lagoas, Goiânia e Jardinópolis e uma maior severidade em Jardinópolis (Figura 3). Este híbrido é resultado do cruzamento de 9409131B e CMSXS180R. A linhagem CMSXS180 apresentou alta FV aos isolados de todos os locais enquanto 9409131B apresentou baixa FV aos isolados de Goiânia e média aos de Sete Lagoas. Embora CMSXS180R tenha sido suscetível a praticamente todos os isolados avaliados em casa de vegetação, quando cultivada em campo, esta apresentou baixa severidade em Sete Lagoas e Goiânia (Figuras 2A e 2B). Estes fatos podem ter influenciado na baixa

severidade de 9920008 em Sete Lagoas e Goiânia e uma maior severidade em Jardinópolis onde as duas linhagens já possuem a maior parte dos isolados virulentos aos parentais do híbrido.

Os híbridos 0009060, BRS 310 e 0009061 apresentaram frequência de virulência intermediária e maior severidade em três locais (Figura 1B, Figura 3). Estes são resultados dos cruzamentos entre ATF8A x BR012R (0009060), ATF54A x BR012R (BRS 310) e ATF14A x BR012R (0009061). BR012R apresentou alta FV aos isolados de cinco locais, ATF54A alta FV em todos e ATF8A e ATF14A apresentaram FVs intermediárias. Em campo, as maiores severidades foram observadas para tais linhagens em Sete Lagoas.

Houve diferença na reação à antracnose entre os híbridos nos diferentes locais. Em todos os locais, as linhagens e os híbridos apresentaram nível de resistência à doença significativamente superior ao da linhagem BR 009, utilizada como padrão de suscetibilidade. Entre as linhagens, a menor severidade foi observada na linhagem CMSXS180R em Sete Lagoas e em Goiânia e também 9910032R em Goiânia. A maior AACPD para a linhagem ATF54A confirma os resultados obtidos em casa de vegetação para esta linhagem, quanto à suscetibilidade ao patógeno. À exceção dos híbridos 0021060 (CMSXS182R x ATF14A), que teve maior AACPD, e 0021054 (CMSXS182R x ATF54A), os demais apresentaram valores de AACPD inferiores aos de seus progenitores (Figura 3).

Em Sete Lagoas, os híbridos 0304023, 0306004, 0306034, 9920008 e 0226001 apresentaram os menores valores de AACPD (Figura 3A). Em Goiânia, a menor severidade da doença foi observada nos híbridos 9920008, 0304023, 0306004, 9817026,

BRS 308 e BRS 332 e, em Jardinópolis, entre os híbridos 0304023, 0021054, 0227003, 0306034 e 0226001 (Figuras 3B e 3C). Em Jataí, todos os híbridos apresentaram baixa severidade de doença, mas inferior à da linhagem BR009 (Figura 3D). O híbrido 0009060 apresentou maior severidade em Sete Lagoas, Goiânia e Jardinópolis. Ao contrário dos outros locais, em Jardinópolis, os híbridos 9920008 e 0306004 apresentaram as maiores severidades.

O híbrido 0304023, que foi estável quanto à baixa severidade nos quatro locais avaliados, apresentou alta frequência de virulência aos isolados testados e foi resistente às raças 29.28, 31.15, e 31.31. A raça 29.28 foi detectada apenas em Jardinópolis, onde sua frequência é relativamente alta, já 31.15 e 31.31 foram detectadas nos 3 locais, porém, 31.15 teve alta frequência somente em Goiânia e 31.31 teve alta frequência em Sete Lagoas e Goiânia. As demais raças às quais este híbrido foi suscetível estavam em baixa frequência ou ausentes na população do patógeno, com exceção de 29.31, em Jardinópolis. Ambos os progenitores deste híbrido (CMSXS206A e CMSXS180R) são suscetíveis a estas três raças e o valor de CAP e CAV nestes três locais foi alto.

O híbrido 0306034 (CMSXS206A x 9910032R), resistente em Sete Lagoas, Jardinópolis e Jataí, mas com alta frequência de isolados virulentos a ele em casa de vegetação, foi resistente às raças 21.28, 29.15, 31.00, 31.04 e 31.23. Seu progenitor masculino (9910032) foi suscetível a todas, enquanto o progenitor feminino foi suscetível a 21.28 e 29.15. O isolado 29.15 foi identificado apenas em Uberlândia e 21.28 apenas em Jardinópolis, em frequência intermediária. As demais raças foram encontradas em baixa frequência nos três locais.

Os híbridos 0021054 (ATF54A x CMSXS182R) e 0021060 (ATF14A x CMSXS182R) tiveram altos valores de AACPD e foram suscetíveis à maioria dos isolados avaliados, entre eles, os mais frequentes em todos os locais. Altos valores de CAP e CAV foram obtidos pelas combinações entre os progenitores de tais híbridos, nos três locais avaliados.

A severidade da doença observada para a maioria dos híbridos testados neste trabalho confirmou os resultados da análise da estrutura de virulência do patógeno, que indicou a ocorrência de virulência associada às combinações entre as linhagens restauradoras e macho-estéreis. Estes resultados estão de acordo com a afirmação de Browder e Eversmeyer (1977) de que o conhecimento da estrutura de virulência em populações do patógeno pode auxiliar na previsão de combinações favoráveis à geração de híbridos de alta resistência. Assim como neste trabalho, Pereira et al. (2011) observaram que entre vinte isolados inoculados em linhagens e híbridos de sorgo, nenhum genótipo foi resistente a todos os isolados.

Como mostrado acima, grande parte dos isolados, aos quais os híbridos foram suscetíveis, não foi detectada ou ocorreu em baixa frequência nos locais avaliados, conforme os dados de casa de vegetação. Este fato explica, pelo menos em parte, os resultados deste trabalho, visto que, em alguns casos, os híbridos que foram resistentes em mais de um local apresentaram resistência às raças mais frequentes na população do patógeno. Por outro lado, raças às quais eles foram suscetíveis estavam em baixa frequência ou ausentes nas populações dos locais de avaliação, como verificado para o híbrido 0304023, gerado pelo cruzamento entre CMSXS206A e a restauradora CMSXS180R. Outro fator que pode ter contribuído

para a resistência deste híbrido é o fato de a linhagem CMSXS180R ser descendente de BR005R, que é usada como fonte de resistência ao patógeno. Outra possibilidade é que o(s) gene(s) de resistência proveniente(s) da linhagem CMSXS180R seja(m) de resistência forte, o que, conforme Mundt (1991), estaria mais ligado à eficiência da resistência que ao número de genes que a cultivar possui. Raças com virulência a genes fortes são menos agressivas (VANDERPLANK, 1982), o que está de acordo com resultados obtidos sobre a agressividade de raças virulentas à cultivar BR005R (CASELA et al., 2004).

A baixa severidade da doença observada nos híbridos suscetíveis aos padrões de virulência mais complexos e em maior frequência na população, como verificado para os genótipos 9817026 e 0306034, pode estar associada a uma perda em agressividade, devido ao acúmulo de virulência no patógeno, conforme Vanderplank (1968). Por outro lado, certas combinações de virulência no patógeno podem estar associadas a uma menor adaptação dele, resultando em baixa frequência na população, conforme sugerem Vanderplank (1982) e Mundt (1991). Este fato foi observado em Jardinópolis, onde raça complexa apresentou baixa frequência em relação a Sete Lagoas e Goiânia, e pode ter favorecido a baixa severidade da doença no híbrido 0306034 neste local.

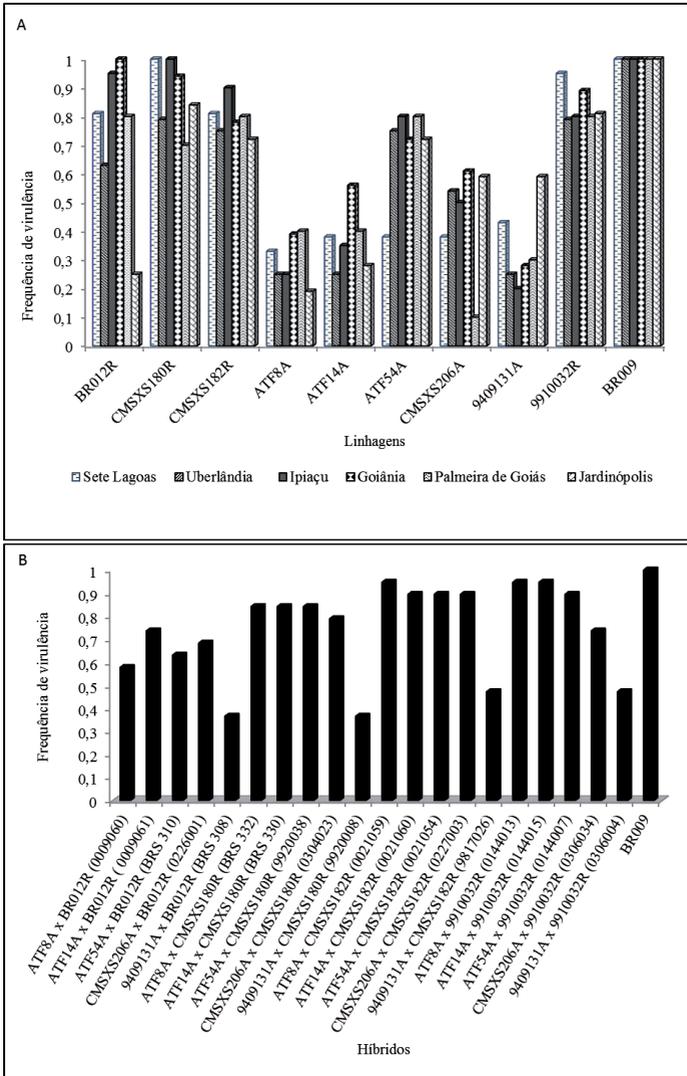
Os genótipos com menor severidade da doença podem estar também expressando resistência horizontal pelo fato de ter sido detectada associação de virulência na população do patógeno a todas as combinações entre as linhagens A e R. A resistência pode ser horizontal devido ao acúmulo de diversos genes com efeitos de pequeno a intermediário (PARLEVLIET, 1993; PEDERSEN; LEATH, 1988; JOHNSON, 1983). Portanto, a

menor severidade da doença observada neste trabalho pode ser resultado da interação ou complementação entre os genes de resistência dos progenitores piramidados nos híbridos, conforme Huang et al. (1997). Outra possibilidade é, ainda, que a resistência seja do tipo vertical incompleta, o que já foi verificado por Guimarães et al. (1999).

Um fator que pode comprometer a durabilidade da resistência é o aumento da área de plantio de uma determinada cultivar resistente. Tal fato favorece a seleção e o aumento na frequência de raças virulentas, fazendo com que a resistência seja superada pelo patógeno (ADUGNA, 2004).

De forma geral, as avaliações de campo confirmaram o que foi observado nas análises de FV e de CAP e CAV, de que a combinação entre as linhagens utilizadas neste trabalho não apresentam potencial para gerar híbridos com alta resistência e que possam ser duráveis. Apesar de baixa severidade ter sido observada em alguns casos, já existem, em todos os locais avaliados, raças virulentas a todos as linhagens e seus híbridos. Novas fontes de resistência precisam ser identificadas para que haja combinações potencialmente capazes de gerar descendentes com alta resistência.

Considerando-se que a resistência vertical das linhagens-elites avaliadas neste trabalho já foi superada por raças de maior virulência do patógeno, sugere-se que o manejo da antracnose seja associado a outras estratégias, como rotação de genes e misturas de cultivares, como uma alternativa a favorecer a durabilidade da resistência de híbridos comerciais.



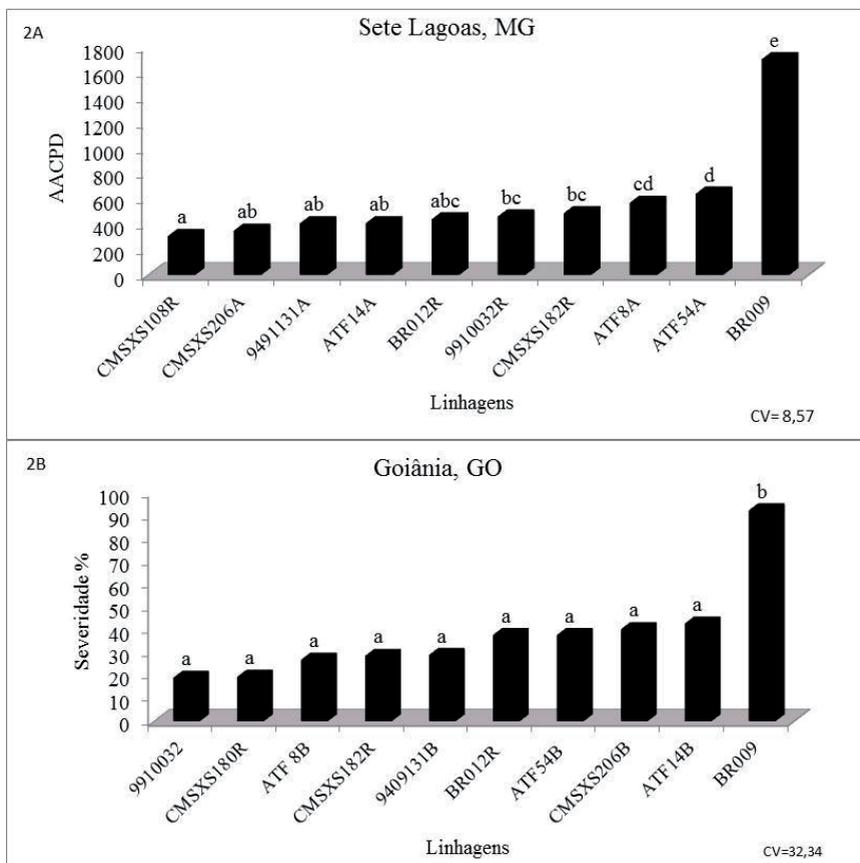


Figura 2. Reação de 10 linhagens de sorgo à antracnose em dois locais. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste Tukey.

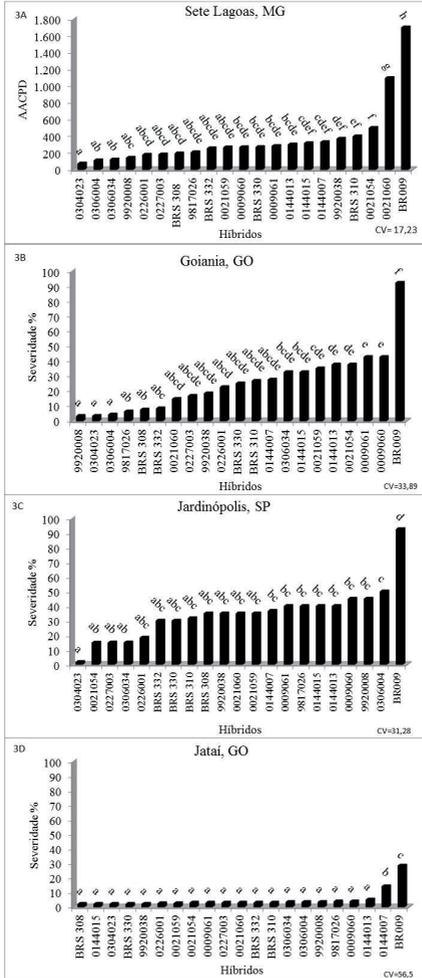


Figura 3. Reação de híbridos de sorgo à antracnose em quatro locais. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, a 5% de probabilidade, pelo teste Tukey.

Conclusões

Nenhuma combinação entre as linhagens macho-estéreis e restauradoras avaliadas apresentou potencial para gerar híbridos com resistência durável em todas as localidades.

A frequência de virulência foi variável, porém, alta, para a maior parte das linhagens e dos híbridos avaliados.

Somente o híbrido 0304023 apresentou baixa severidade à doença, nos quatro locais avaliados.

O conhecimento da estrutura populacional de *C. sublineolum* e da reação de linhagens progenitoras é um critério válido para a previsão do comportamento de híbridos de sorgo em relação ao patógeno.

Agradecimentos

A Dow AgroSciences, nas pessoas do Dr. Paulo Dion e Dr. Fernando B. Guimarães, pela condução do ensaio em Jardinópolis.

A Francisco Solano Araújo Matos, EMATER, GO, pela condução do experimento de campo em Jataí, GO.

A FAPEMIG, pelo apoio financeiro.

Ao CNPq pela concessão de bolsa de mestrado do primeiro autor.

Referências

AGROFIT. **Base de dados de produtos agrotóxicos e fitossanitários**. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2003. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 19 abr. 2011.

ALEXANDER, H. M.; ROELFS, A. P.; GROTH, J. P. Pathogenicity associations in *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* in the United States. **Phytopathology**, St. Paul, v. 74, n. 10, p. 1161-1168, 1984.

ADUGNA, A. Alternate approaches in deploying for disease resistance in crop plants. **Asian Journal of Plant Sciences**, v. 3, n. 5, p. 618-623, 2004.

BROWDER, L. E.; EVERSMEYER, M. G. Pathogenicity associations in *Puccinia recondita tritici*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 67, p. 766-771, 1977.

CARDWEL, K. F.; HEPPEL, P. R.; FREDERIKISEN, R. A. Pathotypes of *Colletotrichum graminicola* and transmission of sorghum anthracnose. **Plant Disease**, St. Paul, v. 73, p. 255-257, 1989.

CASELA, C. R.; FERREIRA, A. S. Reação de genótipos de sorgo a sete patótipos de *Colletotrichum graminicola*, agente causal da antracnose. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 12, n. 1, p. 60-62, 1987.

CASELA, C. R.; FERREIRA, A. S. Associações de virulência em *Colletotrichum graminicola*, agente causal da antracnose em

sorgo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 2, p. 33-38, 1995.

CASELA, C. R.; FERREIRA, A. S.; SANTOS, F. G. Associação de virulência de *Colletotrichum graminicola* à resistência genética em sorgo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 2, p. 143-146, 1998.

CASELA, C. R.; SANTOS, F. G.; FERREIRA, A. S. Race diversity and complexity in populations of the sorghum anthracnose fungus *Colletotrichum graminicola*. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 3, n. 1, p. 30-37, 2004.

COTA, L. V.; COSTA, R. V.; SILVA, D. D.; LANZA, F. E. **Recomendação para o controle químico da antracnose foliar do sorgo**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2011. 14 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 171).

COSTA, R. V.; COTA, L. V.; RODRIGUES, J. A. S.; TARDIN, F. D.; LANZA, F. E. **Controle químico da antracnose do sorgo**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2009. 8 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 117).

CRUTE, I. R.; PINK, D. A. Genetics and utilization of pathogen resistance in plants. **The Plant Cell**, Rockville, v. 8, p. 1747-1755, 1996.

CRUZ, C. D. **Programa genes**. Viçosa: UFV, 2006.

FERREIRA, D. F. **SISVAR**: versão 5.1. Lavras: UFLA, 2007. Software.

GUIMARÃES, F. B.; CASELA, C. R.; SANTOS, F. G. dos; FERREIRA, A. S. Avaliação da estabilidade fenotípica e previsibilidade da resistência de cultivares de sorgo a *Colletotrichum graminicola*. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 25, n. 1, p. 9-13, 1999.

HUANG, N.; ANGELES, E. R.; DOMINGO, J.; MAGPANTAY, G.; SINGH, S.; ZHANG, G.; KUMARAVADIVEL, N.; BENNETT, J.; KHUSH, G. S. Pyramiding of bacterial blight resistance genes in rice: marker-assisted selection using RFLP and PCR. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 95, p. 313-320, 1997.

LEBEDA, A. Population genetics of lettuce downy mildew (*Bremia lactuca*). **Phytopathology**, St. Paul, v. 71, p. 228-239, 1981.

JOHNSON, R. Genetic background of durable resistance. In: LAMBERT, F.; WALTER, J. M.; VAN DER GRAAFF, N. A. (Ed.). **Durable resistance in crops**. New York: Plenum, 1983. v. 55, p. 5-26.

MUNDT, C. C. Probability of mutation to multiple virulence and durability of resistance gene pyramids. **Phytopathology**, St. Paul, v. 80, n. 3, p. 221-223, 1990.

MUNDT, C. C. Probability of mutation to multiple virulence and durability of resistance gene pyramids: further comments. **Phytopathology**, St. Paul, v. 81, n. 3, p. 240-242, 1991.

NIETSCH, S. A.; BORÉM, A.; CARVALHOS, G. A. de; PAULA JÚNIOR, T. J. de; FERREIRA, C. F.; BARROS, E. G. de; MOREIRA, M. A. Genetic diversity of *Phaeoisriopsis griseola* in the State

of Minas Gerais, Brazil. **Euphytica**, Wageningen, v. 117, p. 77-84, 2001.

PARLEVIET, J. E. What is durable resistance, a general outline. In: JACOBS, T. H.; PARLEVIET, J. E. (Ed.). **Durability of disease resistance**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1993. p. 23-39.

PEDERSEN, W. L.; LEATH, S. Pyramiding major genes for resistance to maintain residual effects. **Annual Review Phytopathology**, Palo Alto, v. 26, p. 369-378, 1988.

PEREIRA, I. S.; SILVA, D. D.; CASELA, C. R.; TARDIN, F. D.; ABREU, M. S. Resistência de linhagens genitoras e híbridos simples de sorgo a *Colletotrichum sublineolum*, agente causal da antracnose. **Caatinga**, Mossoró, v. 24, n. 2, p. 46-51, abr./jun. 2011.

SHANNER, G.; FINNEY, R. E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in knox wheat. **Phytopathology**, St. Paul, v. 67, n. 8, p. 1051-1056, Aug. 1977.

SHARMA, H. L. A technique for identifying and rating resistance to foliar diseases of sorghum under field conditions. **Proceeding Indian Academy Science**, New Delhi, v. 42, p. 278-283, 1983.

SILVA, D. D.; CASELA, C. R.; CASTRO, H. A.; SANTOS, F. G.; FERREIRA, A. S. Diversidade populacional de *Colletotrichum sublineolum*, em seis localidades no Brasil. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 34, n. 2, p. 149-155, out./dez. 2008.

TORRES, J. C.; VENTURA, J. A. Um programa para calcular a área e o volume abaixo da curva de progresso da doença. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 16, p. 52, 1991.

VANDERPLANK, J. E. **Disease resistance in plants**. New York: Academic Press, 1968. 206 p.

VANDERPLANK, J. E. **Disease resistance in plants**. 2. ed. New York: Academic Press, 1984. 194 p.

VANDERPLANK, J. E. **Host-pathogen interaction in plant disease**. New York: Academic Press, 1982. 207 p.

WOLFE, P. S.; KNOT, D. R. Populations of plant pathogens: some constraints on analysis of variation in pathogenicity. **Plant Pathology**, London, v. 31, p. 79-90, 1982.

Embrapa

Milho e Sorgo



Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento



CGPE - 10821