

Resistência a *Colletotrichum sublineolum*, Agente Causal da Antracnose do Sorgo, em Populações Hospedeiras Geneticamente Diversas

Ester A.S. Buiate¹, Carlos R. Casela², Fredolino G. Santos², Dagma D. Silva³,
Urubatan P. Klink⁴, Ivan Resende⁴, Marcos V. Cruz⁴ e Mário L. Dutra⁴

¹Universidade Federal de Uberlândia/ICIAG, C.P.593, 38400-902, Uberlândia, MG. esteragro@yahoo.com.br. ²EMBRAPA Milho e Sorgo, C.P.151, 35701-970, Sete Lagoas, MG, casela@cnpmc.embrapa.br. ³Universidade Federal de Lavras, 73200-000, Lavras, MG. ⁴Monsanto do Brasil Ltda, 38400-068, Uberlândia, MG.

Palavras chave: *Sorghum bicolor*, resistência vertical, misturas, piramidação de genes, doenças.

A antracnose, cujo agente causal é *Colletotrichum sublineolum*, é uma doença de ocorrência generalizada no Brasil, presente em todas as áreas de plantio de sorgo no país, sendo considerada a doença de maior importância para a cultura no momento. Seu controle é considerado como prioritário pela indústria de produção de sementes, já que pode causar perdas superiores a 80% na produtividade de grãos, além de causar esterilidade parcial de panículas e afetar drasticamente a qualidade da semente produzida (Panizzi & Fernandes, 1997). O modo mais eficiente de controlar essa enfermidade é a utilização de cultivares geneticamente resistentes. A variabilidade genética existente no germoplasma de sorgo tem permitido a obtenção de fontes de resistência, que vêm sendo intensamente utilizadas em programas de melhoramento para a obtenção de cultivares resistentes.

Um fator limitante à utilização da resistência genética como estratégia para o controle da antracnose é a alta variabilidade apresentada pelo patógeno nas condições brasileiras (Casela & Frederiksen, 1994). Diante desta variabilidade, várias alternativas têm sido avaliadas para a obtenção de resistência estável a este patógeno, como a seleção de genótipos com resistência do tipo dilatória, caracterizada pela maior capacidade de determinados genótipos em limitar o progresso da doença (Casela et al., 1993). Esta resistência, entretanto, tem apresentado certa instabilidade em função da variabilidade populacional do patógeno, havendo indicação de que pelo menos parte desta resistência é do tipo vertical incompleta (Casela et al., 2001), fato que pode determinar a sua perda de eficiência em função da seleção de raças mais adaptadas na população do patógeno. A “quebra” da resistência do híbrido granífero BR304, ocorrida na safrinha de 2004, é uma confirmação desta possibilidade, uma vez que este híbrido apresentava, até recentemente, um excelente nível de resistência dilatória a *C. sublineolum*.

Em função disto, várias estratégias têm sido preconizadas para o manejo da resistência genética de modo a aumentar a sua durabilidade e a sua estabilidade. Dentre essas podem ser citadas a formação de pirâmides de genes de resistência, que consiste na incorporação, em um mesmo genótipo, de dois ou mais genes de resistência, a utilização de misturas de genótipos ou de multilinhas e a rotação de genes de resistência em função da predominância de raças de um patógeno (Mundt, 2002) e, mais recentemente, o uso de multilinhas dinâmicas (Tapsoba & Wilson, 1999). Todas essas alternativas são fundamentadas total ou parcialmente na suposição de que a seleção estabilizadora tende a eliminar ou reduzir a proporção de raças com virulência desnecessária na população do patógeno. Trabalhos recentes indicaram a existência de diferenças

na capacidade competitiva de raças de *C. sublineolum*, indicando uma possível ação da seleção estabilizadora contra raças de maior virulência na população do patógeno (Casela et al., 2001).

Um maior grau de diversificação da população do hospedeiro pode ser obtido através da utilização de populações de híbridos triplos formados por linhagens contendo diferentes genes de resistência a *C. sublineolum*. Esta estratégia apresenta a vantagem de poder integrar em uma única população do hospedeiro, duas estratégias diferentes de manejo de genes de resistência: a piramidação de genes, pelo fato de serem geradas na população do hospedeiro, em função da segregação, genótipos com mais de um gene de resistência, e a multilinha, pelo fato de serem obtidas plantas com constituições genéticas diferentes, resultado da segregação dos genes presentes nas linhagens componentes do híbrido triplo. Esta estratégia tem sido utilizada para o controle da ferrugem do milho, sendo denominada de multilinha dinâmica (Tapsoba & Wilson, 1999).

Em função da alta variabilidade apresentada por *C. sublineolum* é importante que sejam avaliadas alternativas que permitam aumentar a durabilidade e a estabilidade da resistência genética a este patógeno. Os híbridos triplos formados pela combinação de linhagens com diferentes genes de resistência vertical são uma alternativa que pode ser promissora para o manejo adequado da resistência genética a *C. sublineolum*, diminuindo sua severidade e aumentando a estabilidade genética ao patógeno.

O ensaio foi conduzido na área experimental do Centro Nacional de Pesquisa Milho e Sorgo (CNPMS) – EMBRAPA em Sete Lagoas/MG, com 6 materiais (2 híbridos simples, 1 triplo e 3 linhagens) da Embrapa – Milho e Sorgo e 2 híbridos simples e 1 híbrido triplo da empresa Monsanto, totalizando 9 tratamentos no campo (Tabela 1). Os materiais foram semeados em fileiras de 5 metros, com espaçamento de 0,70 m entre fileiras, com 12 a 15 plantas por metro. Cada tratamento foi constituído de duas fileiras alternadas com duas fileiras de um material resistente, para reduzir a movimentação de inóculo entre parcelas. Entre as parcelas, a uma distância de 0,5 m, foram semeadas, de um lado, fileiras de 1 metro do cultivar suscetível, para atuar como fonte de inóculo, e de outro lado, fileiras do mesmo tamanho de um cultivar resistente, para diminuir a movimentação de inóculo entre repetições. Os tratamentos foram distribuídos pelo campo segundo o delineamento experimental de blocos ao acaso com três repetições.

As avaliações de severidade da doença começaram aos 60 dias após o plantio, e continuaram por mais 5 semanas, em intervalos de 7 dias. Foram considerados, para avaliação, três pontos em cada parcela: junto, a 3,5m e a 5,5m da fonte de inóculo. Em cada ponto avaliou-se 4 plantas de forma conjunta. Para a avaliação de cada planta, utilizou-se um escala de notas de 1 a 13, sendo a primeira caracterizada pela ausência de sintoma da doença e a última com 91 a 100% da área foliar afetada (Sharman, 1983, modificada). Os dados obtidos nas avaliações foram utilizados para a obtenção de um valor de área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) (Shanner & Finney, 1977), que foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey a 5% de probabilidade. Em cada avaliação, obteve-se também um valor de incidência média de doença na planta, com base no número de folhas infectadas em cada planta analisada.

Paralelamente, para se obter informações sobre a diversidade populacional de *C. sublineolum* em resposta às diferentes misturas de genótipos de sorgo, a população do patógeno foi monitorada através de testes com as linhagens das duas empresas utilizadas nos híbridos em ensaios conduzidos em casa de vegetação (Tabela 1). Foram obtidos 20 isolados monospóricos de *Colletotrichum sublineolum* nas cidades de Uberlândia e Sete Lagoas. Estes foram transferidos

para placas de Petri contendo meio de farinha de aveia-ágar e mantidas a uma temperatura de $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 8 dias para a indução de esporulação. O inóculo foi preparado com adição de água destilada esterilizada em cada placa, seguida de uma raspagem superficial com uma espátula para a liberação dos conídios.

Tabela 1 - Linhagens e híbridos utilizados nos ensaios. 2005.

Tratamento/Origem	Tipo	Código	Pedigree
01. Embrapa	Híbrido Simples	HE1	ES1A x ES3R
02. Embrapa	Híbrido Simples	HE2	ES2B x ES3R
03. Embrapa	Híbrido Triplo	HTE	(ES1A x ES2B) x ES3R
04. Monsanto	Híbrido Simples	HM1	MSA1 x MSR2
05. Monsanto	Híbrido Simples	HM2	MSA1 x MSR3
06. Monsanto	Híbrido Triplo	HTM	(MSA1 x MSR3) x MSR2
07. Embrapa	Linhagem	ES1A	ES1A
08. Embrapa	Linhagem	ES2B	ES2B
09. Embrapa	Linhagem	ES3R	ES3R
10. Monsanto	Linhagem	MSA1	MSA1
11. Monsanto	Linhagem	MSB2	MSR2
12. Monsanto	Linhagem	MSR3	MSR3

As inoculações foram realizadas pulverizando-se as plantas da série diferencial, aos 28 dias após o plantio, com uma suspensão de conídios na concentração de 10^6 conídios/ml. Depois de inoculadas, as plantas foram colocadas em câmara úmida por um período de 18 horas, sendo em seguida transferidas para bancadas, onde permaneceram até a época de avaliação. Os tratamentos foram distribuídos em parcelas subdivididas com os isolados nas parcelas e as diferenciadoras nas subparcelas, com três repetições, cada uma com 5-6 plantas. As avaliações foram realizadas aos 10 dias após a inoculação, utilizando-se a seguinte metodologia para avaliação da diversidade fenotípica das populações: R(resistente) = ausência de sintomas ou presença de pequenas pontuações necróticas ou cloróticas e S (suscetível) = lesões com a presença de acérvulos (esporulação). Os isolados foram classificados de acordo com o sistema binário, proposto por Habgood (1970).

Com base na reação diferencial das 6 linhagens diferenciadoras, foram detectadas 13 raças de *C. graminicola* entre os 20 isolados monospóricos testados em casa de vegetação (Tabela 2). Deste total, somente as raças 27 e 59 foram comuns aos 2 locais, sendo estas também as mais frequentes, com 20 e 15% respectivamente. Estas foram seguidas pelas raças 11 e 63, com 10% cada. A raça 63, detectada apenas em Sete Lagoas, foi a mais virulenta, com todas as linhagens diferenciadoras suscetíveis a ela, não sendo detectada nos isolados monospóricos de Uberlândia. Ao contrário, a raça 0 (5%) foi encontrada apenas em isolados de Uberlândia.

A identificação de 13 raças do patógeno entre os isolados dos dois locais estudados indicaram a presença de uma alta variabilidade em relação aos genes de virulência de *C. sublineolum*, com resultados semelhantes aos encontrados por Nakamura (1982), Cardwell et al. (1989) e Casela et al. (2004), e sugere que as linhagens possuem genes de resistência diferentes. Informações sobre a diversidade populacional do patógeno são importantes para se prever, por meio de sua virulência a genótipos progenitores, quais cruzamentos poderiam gerar híbridos

resistentes à determinada raça, ou definir estratégias que sejam eficientes no manejo da antracnose.

Tabela 2 - Reação de 6 linhagens diferenciadoras a *C. graminicola*, em Uberlândia e Sete Lagoas, MG.

Linhagem	Raça ¹ /Reação												
	0	7	9	11	19	24	27	31	35	56	57	59	63
ES3R (2 ⁰)	R	S	S	S	S	R	S	S	S	R	S	S	S
ES1A (2 ¹)	R	S	R	S	S	R	S	S	S	R	R	S	S
ES2B (2 ²)	R	S	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	S
MSA1 (2 ³)	R	R	S	S	R	S	S	S	R	S	S	S	S
MSR2 (2 ⁴)	R	R	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S
MSR3 (2 ⁵)	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S
Total de Isolados	1	1	1	2	1	1	4	1	1	1	1	3	2

¹Classificação de acordo com sistema binário (Habgood, 1970)

Em Sete Lagoas, os dois híbridos triplos avaliados não diferiram estatisticamente quanto à severidade de antracnose nos três pontos de avaliação (Tabela 3). O híbrido HE2 e a linhagem ES2B apresentaram os menores valores de AACPD em todos os pontos. Estes, juntamente com o híbrido HTE, no ponto 2, e o híbrido HM2, no ponto 3, foram os melhores tratamentos. O híbrido HM1 apresentou maior valor de AACPD em todos os pontos. À exceção deste material, todos os outros híbridos apresentaram valores de AACPD inferiores a pelo menos dois de seus progenitores em todos os pontos. O híbrido HE1, formado pelas linhagens ES1A e ES3R, foi o pior material da EMBRAPA quanto à AACPD.

Tabela 3 – Área abaixo da curva de progresso da doença medida em três pontos a partir da fonte de inóculo, em Sete Lagoas, MG, 2005.

Tratamento	AACPD		
	Ponto 1	Ponto 2	Ponto 3
ES1A	2485,000 a	2181,667 a	1820,333 ab
HM1	2461,667 a	2333,333 a	2123,333 a
ES3R	2181,667 ab	1936,667 ab	1639,333 b
HE1	2041,667 ab	1656,667 bc	1457,333 bc
HTM	1680,000 bc	1441,000 c	1227,333 c
HM2	1342,000 cd	756,667 d	461,000 de
HTE	1317,000 cd	692,667 de	607,333 d
ES2B	823,000 de	486,000 de	394,333 de
HE2	543,000 e	219,000 de	123,667 e
CV %	14,726	13,789	13,120

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Tuckey a 5% de probabilidade.

O HTE, apesar de não diferir estatisticamente do HTM no ponto 1, apresentou diferença nos valores de severidade medida pela AACPD nos pontos 2 e 3, sendo seu valor de AACPD menor do que o do outro híbrido triplo estudado.

Em relação aos híbridos e linhagens suscetíveis estudados, os híbridos triplos se mostraram mais eficientes no controle da antracnose, comprovando que as multilinhas aumentam

a vida útil de um gene de resistência mesmo que este perca sua efetividade, conforme descrito por Browning & Frey (1969) Isso porque a mistura suporta uma maior diversidade de patógenos do que materiais geneticamente uniformes (Mundt, 2002) devido a sua diversidade genética.

Com isso, estes híbridos integram duas estratégias de manejo de genes de resistência, a piramidação de genes e a multilinha, chamada de multilinha dinâmica ou misturas genéticas. A primeira integra diferentes genes de resistência em um só hospedeiro, enquanto que a multilinha separaria esses genes entre diferentes plantas em uma população. Segundo Witcombe & Hash (2000), o uso de marcadores moleculares possibilitaria a piramidação de genes de resistência a doenças em culturas como milho e sorgo. Porém, por ser uma técnica cara e de difícil execução, os híbridos triplos seriam alternativas práticas e que integrariam essas duas estratégias, aumentando a frequência de plantas com mais de um gene de resistência e a diversidade genotípica.

Literatura citada

- BROWNING, J.A.; FREY, K.J. Multiline cultivars as a means of disease control. **Annual Review of Phytopathology**, 7:355-382, 1969.
- CASELA, C.R.; FREDERIKSEN, R.A. Pathogenic variation in monoconidial cultures of *Colletotrichum sublineolum* from a single lesion and from monoconidial subcultures. **Fitopatologia Brasileira**, 19:149-153, 1994.
- CASELA, C.R.; FREDERIKSEN, R.A.; FERREIRA, A.S. Evidence for dilatory resistance to anthracnose in sorghum. **Plant Disease**, 77:908-911, 1993.
- CASELA, C.R., FERREIRA, A.S.; SANTOS, F.G. Differences in competitive ability among races of *Colletotrichum sublineolum* in mixtures. **Fitopatologia Brasileira**, 26: 217-219. 2001.
- CRILL, P.; HAM, Y. S.; BEACHELLI, H. M. The rice blast disease in Korea and its control with race prediction and gene rotation. **Korean Journal of Breeding**, v. 13, n. 2, p. 106 – 114. 1982.
- HABGOOD, R.M. Designation of physiologic races of plant pathogens. **Nature**, 227:1268-1269, 1970.
- MUNDT, C.C. Use of multiline cultivars and cultivar mixtures for disease management. **Annual Review of Phytopathology**, 40:381-410, 2002.
- PANIZZI, R.C.; FERNANDES, N.G. Doenças do sorgo. In: KIMATI, H.; et al. **Manual de fitopatologia**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995-1997. p. 676-689.
- SHANNER, G., & FINNEY, R. E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. **Phytopathology**, 67:1051-1056, 1977.
- SHARMAN, H.C. A technique for identifying and rating resistances to foliar diseases of sorghum under field conditions. **Proceedings Indian National Science Academy**, 42:278-283, 1983.
- TAPSOBA, H.; WILSON, J.P. Increasing complexity of resistance in host populations through intermating to manage rust or pearl millet. **Phytopathology**, v.89, n. 6, 450-455, 1999.
- WITCOMBE, J.R.; HASH, C.T. Resistance gene deployment strategies in cereal hybrids using marker-assisted selection: gene pyramiding, three-way hybrids, and synthetic parent populations. **Euphytica**, 112:175-186, 2000.
- WOLFE, M.S. Some practical implications of the use of cereal variety mixtures. In: **Plant Disease Epidemiology** (SCOTT, P.R.; BAINBRIDGE, A., eds.), Blackwell Scientific Publications, Oxford, p.201-207, 1978.