

RESISTÊNCIA DE LINHAGENS GENITORAS E HÍBRIDOS SIMPLES DE SORGHUM A *Colletotrichum sublineolum*, AGENTE CAUSAL DA ANTRACNOSE¹

IGOR SOUZA PEREIRA^{2*}, DAGMA DIONÍSIA DA SILVA³, CARLOS ROBERTO CASELA³, FLÁVIO DESSAUNE TARDIN³, MARIO SOBRAL DE ABREU⁴

RESUMO - Foi avaliada a reação de resistência de dez híbridos simples de sorgo (*Sorghum bicolor*) e 14 linhagens genitoras destes híbridos ao patógeno *Colletotrichum sublineolum*, agente causal da antracnose. Em casa de vegetação, os genótipos foram inoculados separadamente com 20 isolados monospóricos obtidos de diferentes regiões produtoras do país. A avaliação foi realizada aos dez dias após a inoculação, utilizando-se escala de notas. Nenhum genótipo de sorgo foi resistente a todos os isolados inoculados. A linhagem CMSXS657 foi resistente a 95%; a linhagem ATF14, a 90%; ATF08, a 85% e CMSXS210, a 70% dos isolados. Dentre os híbridos, destacou-se o BRS305 (CMSXS210A X BR012R), resistente a 75% dos isolados; 9920045 (ATF14A X CMSXS180R), a 65% dos isolados; BRS308 (CMSXS233A X BR012R), a 60% dos isolados e BRS650 (CMSXS222A X CMSXS657R), a 55% dos isolados. As linhagens BR001 e CMSXS222 foram suscetíveis a 90% dos isolados. A frequência de resistência dos híbridos foi igual ou inferior às linhagens genitoras. Exceção faz-se ao híbrido BRS305 (CMSXS210A X BR012R), que foi resistente a um maior número de isolados que seus genitores. Nenhum dos isolados testados foi virulento a todos os genótipos. Os isolados de Campo Novo dos Parecis (MT) foram os mais virulentos enquanto os isolados de Jardinópolis (SP) foram os menos virulentos.

Palavras-chave: *Colletotrichum sublineolum*. *Colletotrichum graminicola*. *Sorghum bicolor*. Resistência monogênica.

RESISTANCE OF PARENT LINES AND SIMPLE HYBRIDS OF SORGHUM TO ANTHRACNOSE FUNGUS *Colletotrichum sublineolum*

ABSTRACT - The reaction of resistance to ten simple hybrids of sorghum (*Sorghum bicolor*), as well as of their 14 parents were evaluated to the pathogen *Colletotrichum sublineolum*, the causal agent of anthracnose. In greenhouse, the genotypes were inoculated separately with 20 monosporic isolates obtained from different sorghum producing areas in the Brazil. Evaluation was carried out ten days after inoculation utilizing methodology proposed by Cardwel et al. (1989). Neither sorghum genotype was resistant to all the isolates inoculated. Line CMSXS657 was resistant to 95%, ATF14 to 90%, ATF08 to 85% and CMSXS210 to 70% of the isolates. The most outstanding hybrids were BRS305 (CMSXS210A X BR012R) resistant to 75% of the isolates, 9920045 (ATF14A X CMSXS180R) to 65% of the isolates, BRS308 (CMSXS233A X BR012R) to 60% of the isolates, and BRS650 (CMSXS222A X CMSXS657R) to 55% of the isolates. Lines BR001 and CMSXS222 were susceptible to 90% of the isolates. The resistance frequency of the hybrids was equal or inferior to that of the parent lines, except for hybrid BRS305 (CMSXS210A X BR012R) which was resistant to a larger number of isolates than its parents. None of the isolates tested were virulent to all the genotypes. The isolates from Campo Novo dos Parecis (MT) were the most virulent while the isolates from Jardinópolis (SP) were the least virulent.

Keywords: *Colletotrichum sublineolum*. *Colletotrichum graminicola*. *Sorghum bicolor*. Monogenic resistance.

* Autor para correspondência.

¹Recebido para publicação em 19/11/2009; aceito em 09/10/2010.

²Setor de Ciências Agrárias, IFPA – Campus Conceição do Araguaia, 68540-000, Conceição do Araguaia - PA; igoreloi@yahoo.com.br

³EMBRAPA - CNPMS, Caixa Postal 151, 35701-970, Sete Lagoas - MG; ddionisia@yahoo.com.br; casela@cnpms.embrapa.br; tardin@cnpms.embrapa.br

⁴Departamento de Fitopatologia, UFPA, Caixa Postal 3037, 37200-000, Lavras - MG; msabreu@ufpa.br

INTRODUÇÃO

O sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Monch) é o quinto cereal mais produzido no mundo, precedido pelo trigo, arroz, milho e cevada, sendo cultivado na maior parte das regiões tropicais e subtropicais (FREDERIKSEN, 2000). É uma planta que suporta altas temperaturas e tolera melhor o déficit e o excesso de umidade no solo do que a maioria das espécies de cereais e pode ser cultivado em ampla faixa de condições de solo. No Brasil, a produção de sorgo tem aumentado na região Nordeste, principalmente para a alimentação animal, na forma de forragem (BARBOSA; SILVA, 2002; MARIGUELE; SILVA, 2002), e na região centro-sul em sucessão à soja, milho e algodão, durante a época de safrinha (EMBRAPA, 2008).

Dentre os problemas encontrados no cultivo do sorgo destacam-se as doenças, sobretudo a antracnose. Esta doença, causada pelo fungo *Colletotrichum sublineolum* P. Henn. Kabat et Bub. (*Colletotrichum graminicola* (Ces.) G.W. Wils) (SHERIFF et al., 1995; CROUCH et al., 2006) se constitui na mais importante enfermidade para a cultura do sorgo, podendo reduzir em mais de 50% a produção de grãos quando há condições favoráveis à doença (HARRIS et al., 1964) limitando a produção em áreas onde condições ambientais quentes e úmidas coincidem com abundante precipitação (NGUGI et al., 2002; ERPELDING; PROM, 2004; CHALA et al., 2010). Atualmente, a doença encontra-se amplamente disseminada nas regiões do mundo onde o sorgo é produzido (THAKUR; MATHUR, 2000), sendo disseminada a longas distâncias por meio de sementes contaminadas (CARDWELL et al., 1989).

Para controle da antracnose, a utilização de variedades resistentes é a estratégia mais viável, sendo encontrados genótipos de sorgo com elevada resistência vertical, mas devido à alta diversidade encontrada na população de *C. sublineolum* (CASELA et al., 2001a; SILVA et al., 2008), a eficiência desta

estratégia em condições brasileiras é reduzida (COSTA et al., 2003). No Brasil, Silva et al. (2008) encontraram 70 raças de *C. sublineolum* a partir de 289 isolados obtidos de seis regiões produtoras de sorgo do país, ocorrendo raças complexas em alta frequência para algumas localidades.

Conseqüentemente, o controle desta enfermidade depende do desenvolvimento de variedades resistentes, sendo necessário o conhecimento da variabilidade associada à virulência da população de *C. sublineolum*, o que permite a indicação dos genótipos de sorgo com menor risco de quebra à resistência em determinada localidade. Segundo Pande et al. (1994), a seleção de materiais de sorgo com resistência vertical à antracnose pode ser realizada em casa de vegetação, onde sintomas característicos da doença são observados nas interações patógeno-hospedeiro compatíveis e sob condições ideais, permitindo também a análise de frequência de virulência do patógeno.

Desse modo, este trabalho teve como objetivos avaliar a resistência vertical de híbridos de sorgo e seus genitores e verificar a virulência de isolados de *C. sublineolum* obtidos das principais regiões produtoras do país.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Centro Nacional de Pesquisa em Milho e Sorgo (EMBRAPA-CNPMS), localizada em Sete Lagoas, MG, no período de agosto a novembro de 2008.

Foram avaliados dez híbridos simples obtidos pelo Programa de Melhoramento Genético de Sorgo da EMBRAPA-CNPMS e as linhagens genitoras destes híbridos, quanto à resistência vertical à antracnose. Dos híbridos, sete são comercializados e três estão em fase de liberação para comercialização (Tabela 1).

Tabela 1. Híbridos simples e as respectivas linhagens macho-estéreis (A) e restauradoras (R) genitoras.

	Híbrido	Macho-estéreis ¹	Restauradoras ²
1	BR304	BR001A	BR012R
2	BRS308	CMSXS233A	BR012R ³
3	BRS310	ATF54A	BR012R ³
4	BRS305	CMSXS210A	BR012R ³
5	BR601	BR007A	BR501R
6	BRS610	ATF54A ³	CMSXS656R
7	BRS650	CMSXS222A	CMSXS657R
8	9920045*	ATF14A	CMSXS180R
9	9920044*	ATF08A	CMSXS180R ³
10	0144015*	ATF14A ³	9910032R

¹As linhagens macho-estéreis correspondem às fêmeas e são designadas pela letra A. ²As restauradoras correspondem aos machos e são designadas pela letra R. ³Genitor utilizado em mais de um cruzamento. *Híbridos não comercializados.

Para a produção de plantas, 20 sementes de cada genótipo de sorgo foram semeadas em vasos plásticos (23x18x18 cm) contendo solo corrigido e adubado conforme recomendação para a cultura. Aos 15 dias após a emergência foi realizado um desbaste mantendo quatro plantas por vaso, as quais foram mantidas em casa de vegetação até o final dos ensaios.

Os isolados de *C. sublineolum* foram obtidos a partir de folhas de sorgo com sintomas da antracnose. Com bisturi esterilizado, foram cortados fragmentos de folhas na região entre a área sadia e infectada. Os fragmentos foram esterilizados superficialmente por dois minutos em solução de hipoclorito de

sódio a 0,5% e em seguida, plaqueados em meio de farinha aveia-ágar (FAA) preparado conforme Dhingra e Sinclair (1995). As placas contendo os fragmentos foram incubadas sob luz fluorescente intermitente à temperatura de 25 °C por sete dias.

A obtenção das culturas monospóricas e sua conservação foi realizada seguindo-se a metodologia descrita por Silva et al. (2008).

Foram obtidos 20 isolados monospóricos a partir de materiais procedentes de Sete Lagoas (MG), Patos de Minas (MG), Goiânia (GO), Jardinópolis (SP), Pelotas (RS) e Campo Novo dos Parecis (MT) (Tabela 2).

Tabela 2. Isolados de *C. sublineolum* obtidos de diferentes genótipos de sorgo e locais, utilizados para determinação da reação de resistência.

	Isolado	Origem	Local de coleta
1	01.08D	Desconhecida	Jardinópolis (SP)
2	14.08D	Desconhecida	Jardinópolis (SP)
3	40.08D	Desconhecida	Jardinópolis (SP)
4	53.08D	BRS610	Sete Lagoas (MG)
5	60.08D	BR304	Sete Lagoas (MG)
6	69.08D	BR009	Sete Lagoas (MG)
7	91.08D	IF305	Sete Lagoas (MG)
8	102.08D	BR310	Patos de Minas (MG)
9	103.08D	Desconhecida	Patos de Minas (MG)
10	106.08D	Desconhecida	Patos de Minas (MG)
11	126.08D	IF305	Goiânia (GO)
12	128.08D	BR506	Goiânia (GO)
13	142.08D	BR700	Goiânia (GO)
14	151.08D	BR501	Goiânia (GO)
15	156.08D	DKB599	Pelotas (RS)
16	159.08D	Desconhecida	Pelotas (RS)
17	169.08D	Desconhecida	Pelotas (RS)
18	187.08D	822MP	Campo Novo do Parecis (MT)
19	210.08D	AG1018	Campo Novo do Parecis (MT)
20	222.08D	AG1018	Campo Novo do Parecis (MT)

Os isolados monospóricos foram transferidos do meio de conservação para placas de Petri contendo meio FAA e mantidos sob luz fluorescente intermitente por sete dias. Aos cinco dias após a transferência, foi realizada a raspagem do micélio para induzir a esporulação. Em seguida, foram repicados para placas de Petri contendo FAA. O mesmo procedimento foi repetido pela segunda vez para obtenção

do número de conídios necessário para o preparo do inóculo.

O inóculo foi obtido em suspensão de água esterilizada, adicionada às placas, procedendo-se em seguida, a raspagem superficial. A contagem dos conídios foi realizada em câmara de Neubauer e a suspensão ajustada para 1×10^6 conídios.mL⁻¹.

As plantas de cada material genético foram

inoculadas aos 28 dias após o plantio com a suspensão de conídios no volume de 10 mL/vaso aplicados diretamente às plantas com auxílio de pulverizador manual. Após a inoculação, as plantas foram mantidas em câmara úmida por 18 horas em temperatura média de 25 ± 2 °C e passado este período, foram retiradas desta condição, permanecendo em casa de vegetação a 26 ± 2 °C e umidade relativa de aproximadamente $70 \pm 5\%$. Os tratamentos foram em parcelas subdivididas com os isolados nas parcelas e os materiais genéticos de sorgo nas subparcelas com duas repetições. Um vaso com quatro plantas caracterizou uma repetição.

As plantas foram avaliadas quanto à reação ao patógeno, 10 dias após a inoculação, utilizando-se escala de notas com valores de 1 a 5, proposta por 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.

Dois 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.

Dentre os genótipos utilizados considerou-se a BR001 como o padrão de suscetibilidade.

A partir dos resultados obtidos fez-se a análise de frequência de resistência dos genótipos e análises descritivas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pela análise da frequência de resistência, os híbridos mais resistentes nas condições estudadas foram BRS305, resistente a 75% dos isolados, 9920045, resistente a 65% dos isolados, BRS308, resistente a 60% dos isolados e BRS650, resistente a 55% dos isolados inoculados. Os menos resistentes foram os híbridos 144015, BRS610 e BR601, que foram suscetíveis a 70% dos isolados inoculados, seguidos pelo híbrido BR304, suscetível a 65% dos isolados e pelo BRS310, suscetível a 60% dos isolados (Figura 1). Silva (2006) trabalhando em condições semelhantes às utilizadas neste trabalho observou que o híbrido 9920045 foi resistente a 15% das raças inoculadas, apresentando moderada resistência em condições de campo em diferentes localidades.

As linhagens CMSXS657, ATF14, ATF08 e CMSXS210 apresentaram as maiores frequências de resistência aos isolados inoculados, sendo estas frequências de 95, 90, 85 e 70%, respectivamente (Figura 1). A elevada resistência das linhagens ATF14, ATF08 e CMSXS210 já haviam sido anteriormente relatadas para patótipos de *C. sublineolum*

de diferentes regiões produtoras do país (SILVA, 2006; CASELA et al., 2001a).

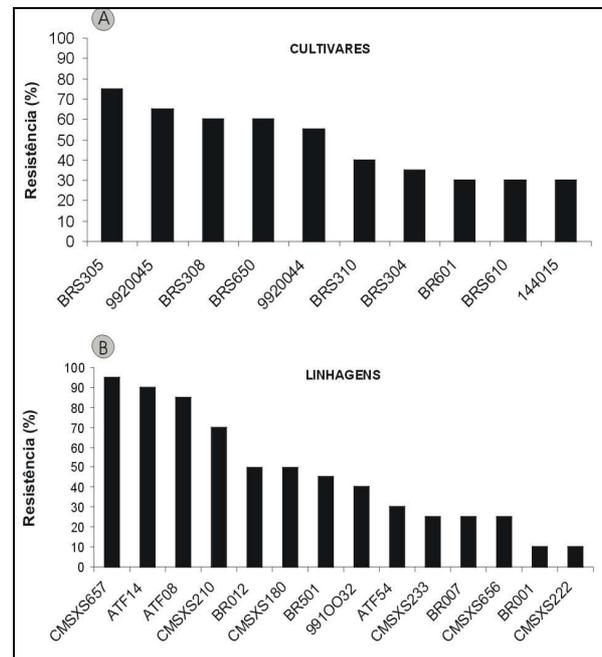


Figura 1. Resistência de cultivares de sorgo (A) e linhagens genitoras (B) a isolados monospóricos de *C. sublineolum*.

As linhagens BR012, CMSXS180, BR501 e 9910032 apresentaram frequência de resistência intermediária, com 50; 50; 45 e 40% de resistência aos isolados, respectivamente. A linhagem ATF54 foi resistente a 30% dos isolados e as linhagens CMSXS233, BR007 e BR501, foram resistentes a 25% dos isolados inoculados (Figura 1). Em testes em casa de vegetação, a linhagem BR012 foi variável quanto à resistência, dependendo da origem da população do patógeno. Entretanto, é um componente de híbridos com resistência a isolados de Sete Lagoas (MG). As linhagens ATF54, CMSXS180 e 9910032 já foram descritas como de baixa frequência de resistência aos isolados de *C. sublineolum* (SILVA, 2006).

As linhagens BR001 e CMSXS222 foram suscetíveis a 90% dos isolados sendo os materiais genéticos com menor frequência de resistência. A elevada suscetibilidade da linhagem BR001 já foi relatada para a região de Pelotas (BRANCÃO et al., 1983) e confirmada por Costa (2004) para diferentes populações do patógeno, assim como para a BR007, que também apresentou elevada suscetibilidade neste experimento.

Os híbridos apresentaram uma frequência de resistência igual ou inferior em relação às linhagens genitoras, com exceção do BRS305, que foi resistente a um maior número de isolados que seus genitores CMSXS210 e BR012. A linhagem CMSXS657 com alta frequência de resistência, cruzada com a linhagem CMSXS222 com baixa frequência de resistên-

cia, gerou o híbrido BRS650 com boa frequência de resistência. Desse modo, estas linhagens poderão ser mais exploradas em programas de melhoramento visando resistência a *C. sublineolum*.

Quanto à virulência, os isolados 222.08D e 210.08D foram os mais virulentos, seguidos pelos isolados 126.08D, 187.08D, 102.08D, 53.08D e 159.08D. Contudo, nenhum deles foi virulento a todos os materiais (Figura 2).

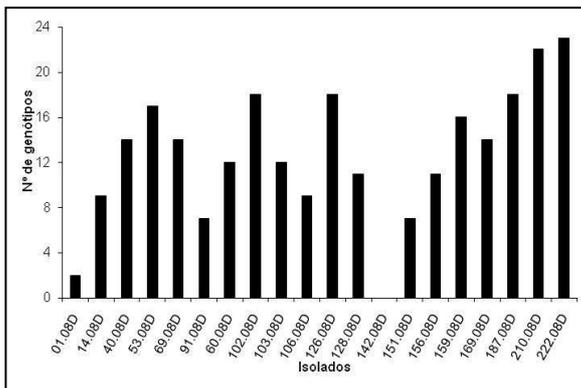


Figura 2. Virulência de isolados de *C. sublineolum* a 24 genótipos de sorgo avaliados em casa de vegetação.

Para a virulência intermediária, podem-se agrupar os isolados 169.08D, 69.08D, 40.08D, 60.08D, 103.08D, 128.08D e 156.08D. O isolado 142.08D não foi patogênico nas condições estudadas. Os isolados 01.08D, 14.08D, 106.08D, 91.08D e 151.08D também foram pouco virulentos aos genótipos estudados.

De acordo com a localidade de obtenção, os isolados de Campo Novo dos Parecis (MT) foram os mais virulentos e os de Jardinópolis (SP), apresentaram menor virulência. Estes resultados divergem daqueles relatados por Cardwell et al. (1989) em que os indivíduos mais complexos foram obtidos em estações experimentais onde havia maior diversidade no hospedeiro, em função do maior número de genótipos de sorgo plantados. Estes indivíduos eram muito mais complexos do que aqueles obtidos de populações naturais.

Nota-se também que os isolados de Sete Lagoas (MG), coletados no Centro Nacional de Pesquisa em Milho e Sorgo, não foram os mais virulentos, apesar desta localidade possuir maior diversidade na população do hospedeiro dentre as localidades de coleta dos isolados. Destaca-se, entretanto, que alguns destes isolados foram coletados a partir de genótipos de sorgo com baixa resistência à antracnose (BR304, BR009 e BRS610). Por exemplo, a linhagem BR009 é tida como padrão de suscetibilidade (CASELA et al., 2001a).

O acúmulo de genes de virulência desnecessários nos isolados resulta em custo adaptativo para estes, expresso na forma de perda de virulência ao hospedeiro. Assim, predomina na população de hos-

pedeiro os isolados que possuem maior facilidade na sua sobrevivência quando comparada àqueles isolados com elevado número de genes de virulência (VANDERPLANK, 1968). Fato observado neste estudo.

No trabalho foram encontrados isolados com alta virulência, mas em baixa frequência, devido ao número de genes de virulência desnecessários, reforçando os resultados encontrados por Casela et al. (2001b) que verificaram predominância de raças mais simples em relação a raças mais complexas, as quais acumulam desvantagem adaptativa. Destaca-se que estudos sobre a diversidade populacional do patógeno, fazem-se necessários com um maior número de isolados, em diferentes épocas ao longo do ciclo da cultura, para haver maior representatividade da população no local de coleta.

CONCLUSÕES

As linhagens CMSXS657, ATF14, ATF08 e CMSXS210 apresentam elevada frequência de resistência aos isolados inoculados;

Nenhum genótipo de sorgo testado foi resistente a todos os isolados;

Constata-se a presença de isolados de *C. sublineolum* com elevada virulência em condições naturais de cultivo de sorgo.

REFERÊNCIAS

- BARBOSA, A. P. R.; SILVA, P. S. L. Avaliação do rendimento de grãos e forragem de cultivares de sorgo forrageiro. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 15, n. 1/2, p. 7-12, 2002.
- BRANCÃO, N. et al. Etiologia e controle das doenças fúngicas do sorgo. In: REUNIÃO TÉCNICA ANUAL DA CULTURA DO SORGO, 12., Pelotas, **Anais...** Pelotas: EMBRAPA - UEPAE de Pelotas. Convênio EMBRAPA/UFPEL, 1983. p. 34-37.
- CARDWELL, K. F. et al. Pathotypes of *Colletotrichum graminicola* and seed transmission of sorghum anthracnose. **Plant Disease**, v. 73, n. 3, p. 255-257, 1989.
- CASELA, C. R. et al. Reaction of sorghum genotypes to the anthracnose fungus *Colletotrichum graminicola*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 2, p. 197-200, 2001a.
- CASELA, C. R. et al. Differences in competitive ability among races of *Colletotrichum graminicola* in mixtures. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 2, p. 217-219, 2001b.

- CHALA, A. et al. Effect of host genotypes and weather variables on the severity and temporal dynamics of sorghum anthracnose in Ethiopia. **Plant Pathology Journal**, v. 9, n. 1, p. 39-46, 2010.
- COSTA, R. V. **Estudo da herança e manejo da antracnose do sorgo por meio da diversificação da população hospedeira**. 2004. 98 f. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Faculdade de Agronomia. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.
- COSTA, R. V. et al. A antracnose do sorgo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 4, p. 345-354, 2003.
- CROUCH, J. A. et al. Unraveling evolutionary relationships among divergent lineages of *Colletotrichum* anthracnose disease in turfgrass and corn. **Phytopathology**, v. 96, n. 1, p. 46-60, 2006.
- DHINGRA, O. D., SINCLAIR, J. B. **Basic plant pathology methods**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press Inc., 1995. 434 p.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Sistemas de produção, 2: cultivo do sorgo**. 4. ed. Sete Lagoas: CNPMS, 2008. Disponível em: <<http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/sorgo/index.htm>>. Acesso em: 20 maio 2009.
- ERPELDING, J. E.; PROM, L. K. Evaluation of Malain sorghum germoplasm for resistance against anthracnose. **Plant Pathology Journal**, v. 3, n. 2, p. 65-71, 2004.
- FREDERIKSEN, R.A. **Compendium of sorghum diseases**. Saint Paul: American Phytopathological Society, 2000. 82 p.
- HARRIS, H. B. et al. Evaluation of anthracnose on grain sorghum. **Crop Science**, v. 4, n. 5, p. 460-462, 1964.
- MARIGUELE, K. H.; SILVA, P. S. L. Avaliação do rendimento de grãos e forragem de cultivares de sorgo granífero. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 15, n. 1/2, p. 13-18, 2002.
- NGUGI, H. K. et al. Prevalence, incidence, and severity of sorghum diseases in Western Kenya. **Plant Disease**, v. 86, n. 1, p. 65-70, 2002.
- PANDE, S. et al. Development of screening methods and identification of stable resistance to anthracnose in sorghum. **Field Crops Research**, v. 38, n. 3, p. 157-166, 1994.
- SHERRIF, C. et al. rDNA sequence analysis confirms the distinction between *Colletotrichum graminicola* and *C. sublineolum*. **Mycological Research**, v. 99, n.4, p.475-478, 1995.
- SILVA, D. D. et al. Diversidade populacional de *Colletotrichum sublineolum*, em seis localidades no Brasil. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 34, n. 2, p. 149-155, 2008.
- SILVA, D. D. **Resistência de híbridos de sorgo a *Colletotrichum sublineolum*: previsibilidade por meio da reação de linhagens genitoras**. 2006. 124 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras. Lavras, 2006.
- THAKUR, R. P.; MATHUR, K. Anthracnose. In: FREDERIKSEN, R. A. (Ed.). **Compendium of sorghum diseases**. St. Paul: APS, 2000. p. 10-12.
- VANDERPLANK, J. E. **Disease resistance in plants**. London/New York: Academic, 1968. 206 p.