

MANEJO DA RESISTÊNCIA GENÉTICA A PATÓGENOS NAS CULTURAS DE MILHO E SORGO

CARLOS ROBERTO CASELA¹ & ALEXANDRE S. FERREIRA²

INTRODUÇÃO

A partir da década de 1990, a cultura do milho no Brasil começou a enfrentar sérios problemas de doenças que têm causado severas perdas à produção tanto em quantidade quanto em qualidade. Este aumento pode ser explicado pela interação entre vários fatores como o manejo inadequado desta cultura, a ampla distribuição da área de plantio, fazendo com que a mesma esteja exposta a diferentes condições climáticas, a monocultura resultante do plantio sucessivo do milho em uma mesma área, a adoção de novas práticas de cultivo como o plantio direto e o plantio da safrinha e a própria suscetibilidade das cultivares comerciais a estas doenças. Uma situação semelhante ocorreu também com a cultura do sorgo, que expandiu para uma área acima de um milhão de hectares em 2003, sendo uma importante opção como segunda safra nas regiões Sudeste e Centro-Oeste. Ao lado dessa expansão houve também um aumento na incidência e severidade de doenças nestas culturas que têm limitado a obtenção de novos ganhos de produtividade.

Uma doença de grande importância nos últimos anos, nesta cultura, é a ferrugem polissora, causada por *Puccinia polysora* Underw. O patógeno apresenta alta variabilidade conforme trabalhos recentes desenvolvidos no Brasil (Casela & Ferreira, 2001) e que confirma estudos realizados anteriormente (Ryland & Storey., 1955; Robert, 1962; Yeh, 1986). A cercosporiose, causada pelo patógeno *Cercospora zea-maydis*, embora de ocorrência recente, é considerada como uma das mais importantes doenças a afetar a cultura do milho, principalmente na região Centro-Oeste do Brasil. Este aumento na severidade da Cercosporiose está, de certa forma, associado ao aumento na área de plantio direto, principalmente nas situações em que ocorrem plantios sucessivos de milho em uma mesma área. O aumento na incidência e severidade da cercosporiose no Brasil está associado ao aumento na área de plantio direto de milho, por permitir que o patógeno sobreviva nos restos culturais infestados pelo patógeno. Esta é uma situação semelhante à verificada nos Estados Unidos no início da década de 1980 (Hilty et al., 1979) e África do Sul no início dos anos de 1990 (Ward & Hadden, 1998).

Uma outra doença de crescente importância para a cultura do milho no Brasil é a antracnose (*Colletotrichum graminicola*). A doença ocorre com alta

¹ Ph. D. Fitopatologia, Embrapa Milho e Sorgo. C.P. 151, 35701-970 Sete Lagoas, MG.

² M.Sc Fitopatologia, Embrapa Milho e Sorgo.

severidade no Centro-Oeste, Sudeste e Sul do Brasil, chegando, em determinadas situações, a causar severas perdas à produção em lavouras comerciais no noroeste de Minas Gerais. O patógeno apresenta variabilidade quanto à patogenicidade, virulência e agressividade conforme demonstrado por White et al. (1987). Além disto, *C. graminicola* é um patógeno necrotrófico, podendo sobreviver na forma de micélio e conídios em restos culturais (Vizvary & Warren, 1982), o que representa um perigo potencial, em termos de ocorrência de epidemias severas resultantes do manejo inadequado da cultura em áreas de plantio direto.

Com relação à cultura do sorgo, a antracnose tem sido uma doença de ocorrência generalizada no Brasil, sendo considerada a de maior importância para a cultura no momento. O seu controle é considerado como prioritário pela indústria de produção de sementes, já que pode causar perdas de até 70% na produtividade, além de causar esterilidade parcial de panículas e afetar drasticamente a qualidade da semente produzida. O patógeno apresenta abundante produção de microesclerócios, a qual pode ser observada, em colmos secos de cultivares suscetíveis, ao final o ciclo da cultura. Estas estruturas desempenham um importante papel como fonte primária de inóculo (Casela & Frederiksen, 1993). O míldio do sorgo, causado por *Peronosclerospora sorghi* [Weston & Uppal (Shaw)], uma doença restrita, até recentemente, aos estados da região Sul, adquiriu nos últimos anos uma importância maior nas regiões Sudeste e Centro-Oeste pelos problemas causados principalmente em lavouras de produção de sementes, particularmente no noroeste do estado de Minas Gerais e em determinadas áreas do estado de São Paulo. A resistência genética é o meio mais eficiente e ecologicamente seguro de se controlar a doença (Craig & Odvody, 1992), mas esta estratégia tem sido dificultada pela variabilidade existente na população do patógeno (Craig & Frederiksen, 1980, 1983; Pawar, 1986). Trabalhos recentes realizados na Embrapa Milho e Sorgo indicaram a existência, no Brasil, de uma variabilidade genética na população de *P. sorghi*, maior do que aquela revelada até o momento por trabalhos realizados em outras áreas do mundo onde a doença está presente (Barbosa, 2004).

O controle mais eficiente desta enfermidade é obtido por cultivares geneticamente resistentes. É importante chamar a atenção para a necessidade de se aumentar a diversidade genética para resistência a doenças, apesar dos programas de melhoramento apenas recentemente priorizarem esta em seus trabalhos. A utilização de materiais geneticamente superiores do ponto de vista de resistência a doenças, poderá gerar, como contrapartida, a seleção de raças de maior virulência nas populações destes patógenos, podendo resultar em epidemias tão ou mais severas do que aquelas ocorridas até o momento. Há ainda que se considerar a possibilidade de se cair em um círculo vicioso de desenvolvimento de novos cultivares com novas fontes de resistência e a

quebra desta resistência pelo rápido surgimento de novas raças na população do patógeno, tornando fundamental a adoção de estratégias que evitem o desenvolvimento desta situação. É importante que produtores, melhoristas e fitopatologistas, considerem a possibilidade de poderem direcionar a população do patógeno em lugar de serem direcionados pelas mudanças ocorridas na população do patógeno. Este trabalho tem por objetivo discutir estratégias que permitam manejar e se antecipar a mudanças na população de agentes patogênicos através da diversificação da população hospedeira.

Vulnerabilidade Genética a Agentes Patogênicos nas Culturas de Milho e Sorgo

Com o melhoramento genético das espécies cultivadas houve um aumento no grau de uniformidade genética das cultivares comercializadas que trouxe, como conseqüência, um aumento no risco de ocorrência de epidemias. Esta é uma situação que se verifica, por exemplo, no cenário atual da cultura do milho no Brasil, devido a aumento gradativo na área plantada com híbridos simples, formado pelo cruzamento entre apenas duas linhagens parentais, em detrimento da área de plantio com híbridos triplos, formado pelo cruzamento entre três linhagens, e duplos resultantes de cruzamentos entre dois híbridos simples. Tomando ainda a cultura do milho como referência, duas outras causas podem ter sido determinantes para uma maior vulnerabilidade desta cultura a doenças, do ponto de vista genético:

1. A existência de uma base genética restrita, pelo fato de que muitos dos híbridos comerciais existentes atualmente no mercado brasileiro de sementes terem pelo menos uma linhagem parental em comum.
2. O plantio de grandes extensões de áreas com uma única cultivar, o que facilita grandemente o desenvolvimento de epidemias, uma vez iniciadas.

Outras causas podem influenciar a durabilidade da resistência genética a doença, como a introdução de patógenos, exemplificada no Brasil pela introdução ainda recente do fungo *Claviceps africana*, agente causal da doença açucarada do sorgo; a associação da suscetibilidade a determinada doença com alguma característica desejável do ponto de vista agrônomo, como foi a epidemia causada por *Bipolaris maydis* em híbridos de milho possuidores do citoplasma T de macho – esterilidade; a infecção de uma cultivar tida como resistente, por uma raça ainda não identificada do patógeno; a “quebra” da resistência vertical pela seleção de raças de maior virulência na população do patógeno; fatores ambientais como a densidade de plantio; manejo inadequado como a não utilização da rotação de culturas (Adugna, 2004; Tatum, 1971).

Os fatores acima mencionados são influenciados em maior ou menor grau, pela diversidade genética presente na população do patógeno que, por sua vez, são determinados por outras forças evolutivas que governam a sua evolução como migração, a deriva genética e o tamanho da população, o fluxo gênico e

genotípico, a reprodução sexual e a seleção imposta pelos genes de resistência do hospedeiro (McDonald & Linde, 2002). Todos estes aspectos indicam claramente que a durabilidade da resistência não é apenas uma questão genética, mas também de manejo do agro-ecossistema como um todo. Tomando-se a situação específica relacionada às culturas de milho e de sorgo como exemplo, várias alternativas foram avaliadas e mesmo recomendadas na tentativa de se reduzir a vulnerabilidade dessas espécies a doenças:

1. Rotação de culturas: entendida não apenas como uma forma de se reduzir o potencial de inóculo de patógenos necrotróficos, como também de se reduzir a possibilidade de multiplicação de raças virulentas destes patógenos.
2. Diversificação espacial de cultivares: plantio de cultivares que tenham bases genéticas reconhecidamente distintas.
3. Diversificação temporal de cultivares: rotação de cultivares em uma mesma área de plantio com base no mesmo critério acima.
4. Uso de misturas genéticas formadas pela combinação, em híbridos triplos, de linhagens com diferentes genes de resistência vertical a um determinado patógeno.

Seleção contra a virulência desnecessária

Evidências Experimentais

Diversas características de um patógeno como a sua taxa de reprodução, a sua eficiência de infecção, ou a quantidade de doença causada em um hospedeiro, podem ser utilizados como uma medida de sua capacidade competitiva (Leonard, 1980; Leonard, 1997; Nelson, 1979; Wolfe et al., 1980). Vanderplank (1968), desenvolveu o conceito de seleção estabilizadora a qual liga a qualidade de um gene de resistência à capacidade competitiva de um patógeno. Ao se introduzir um determinado gene de resistência no hospedeiro, a população do patógeno tende a se adaptar, por meio da seleção direcional, a essa nova situação, o que favorece o desenvolvimento de novas raças na sua população. Uma pressão de seleção negativa será exercida contra a porção não patogênica da população do patógeno; quando o gene vertical não está presente no hospedeiro e o gene de virulência correspondente no patógeno torna-se desnecessário, a seleção estabilizadora operará a favor de raças do patógeno com o menor número de genes de virulência (Crill, 1977).

A força com que a seleção estabilizadora opera na população do patógeno é determinada pela força do gene de resistência vertical do hospedeiro. Por sua vez, a força do gene de resistência vertical, é definida pela atuação da seleção estabilizadora contra raças complementares do patógeno. Quanto mais forte for o gene de resistência vertical, maior será a força da seleção estabilizadora. A seleção estabilizadora a favor da associação de virulência a dois genes de resistência vertical é refreada, em maior ou menor

extensão, pela tendência, que esses dois genes de virulência têm a se dissociar, desde que os dois genes pertençam a grupos diferentes. Esta é uma visão de seleção estabilizadora mais ampliada em relação à anterior, na medida em que considera o aspecto da associação ou dissociação de dois genes quaisquer de virulência no patógeno. A maior ou menor estabilidade da resistência vertical estaria associada à força da seleção estabilizadora em populações hospedeiras sem os genes verticais em associação (Vanderplank, 1982; Vanderplank, 1984).

Várias metodologias foram já utilizadas para a avaliação do conceito de seleção estabilizadora de Vanderplank. Alguns trabalhos basearam-se em observações de campo sobre o declínio de determinados genes de virulência na população do patógeno, na ausência dos genes correspondentes de resistência do hospedeiro ou em relação à frequência observada de associações de genes de virulência em relação à frequência esperada com base na associação ao acaso destes genes de virulência (Parlevliet, 1981; Leung et al., 1993; Grant & Archer, 1983; Chen et al., 2001). Uma outra linha de trabalhos envolveu a avaliação da capacidade competitiva de raças com diferentes níveis de complexidade com relação à virulência em misturas (Brown & Sharp, 1970; Watson & Luig, 1968; Ogle & Brown, 1970; Martens et al., 1970; Casela et al., 2001). Uma terceira linha consiste em se determinar diretamente, se a inativação de um gene de virulência traz consigo uma redução na capacidade competitiva de uma determinada raça. Resultados de laboratório e de casa de vegetação necessitam, obviamente, de serem validados no campo (Leach et al., 2001).

Quando uma população heterogênea de *P. graminis* f. sp. *avenae* foi cultivada, em casa de vegetação, por oito gerações sucessivas sobre as cultivares, as raças que induziram reação de resistência sobre uma série diferencial padrão, tiveram as suas frequências aumentadas na população. Raças virulentas a determinadas cultivares da série diferencial apresentaram valores de sobrevivência 14 a 46% inferiores aos de raças avirulentas às mesmas cultivares (Leonard, 1969). Contudo, outros resultados, indicaram que um estreito espectro de virulência a agressividade não estão necessariamente associados. Em trabalhos com *Phytophthora infestans*, Thurston (1961) verificou a predominância da raça 0 sobre raças mais complexas, em misturas inoculadas em cultivares suscetíveis em casa de vegetação. Estes resultados não foram, entretanto, confirmados em trabalhos realizados em condições de campo. As raças de maior complexidade foram mais agressivas do que raças mais simples, quando inoculadas isoladamente em cultivares suscetíveis de batata. Segundo os autores, uma provável explicação para estes resultados conflitantes, está no fato de que diferentes isolados de uma mesma raça podem diferir entre si quanto à agressividade. Entretanto, esses resultados foram coincidentes com dados de levantamentos de raças desse patógeno nos quais se observou a predominância da raça 0.

Dados de campo demonstrando esses fatos devem ser interpretados com bastante cuidado, pois outros fatores podem estar influenciando esses resultados. Levantamentos de raças freqüentemente combinam resultados de diferentes sub-populações sujeitas a diferentes pressões de seleção. Além disto, se o patógeno raramente ou nunca passa pelo ciclo sexual, as alterações observadas podem refletir apenas o declínio de uma determinada linhagem clonal, por um declínio na sua fonte de alimento (Burdon, 1993). Pela mesma razão, a presença contínua de virulência desnecessária em alta freqüência não é, por si, uma prova conclusiva da ausência de seleção estabilizadora, a qual pode estar sendo influenciada por uma seleção ativa em hospedeiros selvagens na mesma região, pela ligação a outros genes vitais para a sobrevivência, ou ainda pela ausência de recombinação sexual. Alexander et al. (1985), obtiveram resultados que podem ser considerados como seleção, tanto a favor quanto contra, a virulência desnecessária. Ao avaliarem alterações na virulência de uma população heterogênea de *Uromyces appendiculatus*, mantida por 5 gerações sucessivas na variedade Slingreen, os autores observaram um aumento na freqüência de isolados virulentos à variedade USNo.3 e um declínio em relação a outras cultivares. Essas diferenças foram atribuídas a respostas à seleção em outras partes do genoma ou à superioridade de determinadas combinações de fatores de virulência.

Ogle & Brown (1970), compararam a capacidade competitiva de 2 raças de *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* em oito cultivares de trigo, por várias gerações, em casa de vegetação. Em todas as cultivares houve a predominância da raça de maior virulência. Verificou-se, além disto, que a superioridade das raças mais complexas foi determinada, em parte, pela habilidade em produzir, por um período mais longo, maiores quantidades de inóculo. O processo de infecção foi também avaliado para se verificar a ocorrência de diferenças entre as duas raças em qualquer estágio do processo de infecção. As raças de maior virulência apresentaram uma maior proporção de germinação, penetração e crescimento uredial, além de as urédias terem aumentado de tamanho mais rapidamente e, efetivamente, apresentaram uma maior esporulação em relação às urédias das raças mais simples (Ogle & Brown, 1971).

Martens (1973), avaliou a predominância de raças de *P. graminis* f. sp. *hordei* por um período de 10 anos no Canadá e verificou a predominância de raças de maior virulência e com maior número de genes desnecessários de virulência. Isso o levou a concluir que a capacidade competitiva de raças deste patógeno não está relacionada ao número de genes de virulência desnecessários.

Os trabalhos desenvolvidos por Scheifelle & Nelson (1968) com *Exserohilum turcicum* em milho, permitiram a elucidação de alguns aspectos relativos à capacidade de sobrevivência de raças de parasitas não obrigatórios. Misturas de raças simples e complexas desse patógeno foram avaliadas quanto

à sua capacidade competitiva em cultivares suscetíveis de milho, por meio de transferências em série, por seis gerações consecutivas, e de sua disseminação natural no campo. Em todas as avaliações, o isolado predominante apresentou uma capacidade superior de infecção, um reduzido período de incubação e uma maior capacidade de esporulação. Não se estabeleceu nenhuma relação entre a simplicidade da raça e a sua capacidade competitiva. Nelson & Scheifelle (1970), demonstraram, em misturas envolvendo diferentes isolados de *E. turcicum*, a predominância tanto de raças complexas quanto de raças simples, tanto na fase parasítica quanto na fase saprofítica.

A idéia de uma independência entre os fatores que governam a virulência e genes que influenciam a capacidade competitiva de raças de patógenos foi reforçada pelos estudos de Caten (1974), que revelaram a existência de interações entre isolados de uma mesma raça de *P. infestans* e cultivares de batata. Linhagens de uma mesma raça apresentaram adaptação diferencial aos genótipos do hospedeiro sobre os quais elas se desenvolveram no campo. Conclusões semelhantes foram obtidas por Osoro & Green (1976), ao avaliarem, no Canadá, a seleção estabilizadora em *P. graminis* f. sp. *tritici*. A predominância de raças complexas em misturas com raças mais simples após quatro a dez gerações em cinco de seis misturas avaliadas, e a coincidência entre estes resultados e observações de campo, reforçaram a idéia de que genes para virulência e genes para capacidade competitiva, são independentes e distribuídos ao acaso na população. A associação entre tais genes é casual, embora a possibilidade de haver ligação entre eles deva ser considerada.

Em *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici*, Bronson & Ellingboe (1986), verificaram que genes influenciando a capacidade competitiva de dois isolados do patógeno, diferindo entre si em relação a 4 genes desnecessários de virulência, segregaram de forma independente dos genes que influenciam a virulência, não se encontrando nenhuma evidência em suporte à hipótese de Vanderplank (1968). Um aspecto do modelo proposto por Vanderplank (1968), que gerou fortes reações à sua aceitação, foi o caráter universal, a ele atribuído, e à ligação indissolúvel entre resistência vertical e seleção estabilizadora. Contra essa ligação, Parlevliet (1981a) destacou dois aspectos que considerou como pontos fracos do modelo: o primeiro é o fato de que qualquer resultado experimental que negue a existência de seleção contra a virulência desnecessária pode ser interpretado como devido ao fato de que os genes verticais são fracos (Nelson, 1973) e o segundo é o de se considerar a efetividade da resistência vertical necessariamente associada a uma seleção estabilizadora forte. Vanderplank (1968), considerou que se as raças complexas fossem tão aptas a sobreviverem quanto as raças simples, os genes verticais não teriam sido identificados. Contra este argumento, Parlevliet (1981b), considerou que a resistência vertical reflete apenas o esforço dos programas de melhoramento na exposição do hospedeiro a populações do patógeno com as

quais não havia co-existido anteriormente. A resistência vertical seria, assim, o resultado da ausência de adaptação do patógeno a novos genes verticais introduzidos. Esta adaptação ocorreria em dois estádios: no primeiro, ocorreria a seleção do gene de virulência e, no segundo estágio, ocorreria a seleção de indivíduos com uma maior capacidade competitiva.

Antonovics & Alexander (1989), consideram que três questões são relevantes na discussão sobre virulência e capacidade competitiva de raças de patógenos. A primeira é saber se determinada raça é mais ou menos competitiva do que outra; a Segunda, se os genes de virulência são os que reduzem esta capacidade competitiva; e a terceira se os genes de virulência, como um todo, são capazes de reduzir a capacidade competitiva média da população de todos os indivíduos possuidores desses genes.

Devido às suas implicações para os programas de melhoramento e para o manejo da resistência a doenças, o interesse pela possibilidade de existência de uma força seletiva atuando contra a virulência desnecessária, que permita a remoção de genes de virulência da população do patógeno, como consequência da remoção dos genes correspondentes de resistência do hospedeiro, continuará a merecer a atenção por parte de melhoristas e fitopatologistas. A possibilidade de reciclagem de genes de resistência é altamente desejável, na medida em que permitiria uma utilização planejada dos genes de resistência, de modo a se obter um controle efetivo de uma determinada doença.

ROTAÇÃO LOCAL DE GENES DE RESISTÊNCIA

Esta alternativa vem sendo avaliada como uma possível alternativa para o manejo de patógenos necrotróficos que apresentam alta variabilidade (Fry, 1982) como é o caso de *Colletotrichum sublineolum*, agente causal da antracnose do sorgo. É a alternância de cultivares de uma determinada espécie em uma mesma área de plantio. Esta estratégia pode ser uma forma de impedir ou de reduzir a seleção de raças compatíveis na população do patógeno.

Verificou-se que raças do patógeno, com diferentes níveis de complexidade para virulência em relação a três genótipos de sorgo, se diferenciavam entre si quanto a sua capacidade competitiva, quando em mistura. Esses resultados confirmaram dados sobre a predominância destas raças em condições naturais. De acordo com Casela (2001), raças do grupo A, avirulentas aos genótipos BR008, BR005 e SC283, foram mais competitivas, quando inoculadas em mistura com raças dos grupos B (virulentas a BR008), C (virulentas a BR005) e E (virulentas a BR008 e a BR005) (**Figura 1**). Com base nestes resultados, procedeu-se a uma avaliação preliminar da possibilidade de rotação destas cultivares, em cinco plantios sucessivos conforme delineado abaixo. De cada plantio De cada plantio são obtidas culturas monospóricas do patógeno, as quais são caracterizadas quanto à virulência em 6 cultivares de sorgo. Foram observadas respostas específicas de *C. graminicola* a cada

genótipo plantado, havendo a predominância, em cada plantio, de raças com menor número de genes de virulência a cada genótipo. Os resultados indicaram ser possível aumentar a estabilidade da resistência a *C. sublineolum* através de um sistema de previsão de raças do patógeno, com base na rotação de genótipos do hospedeiro no tempo (Casela et al., 2004).

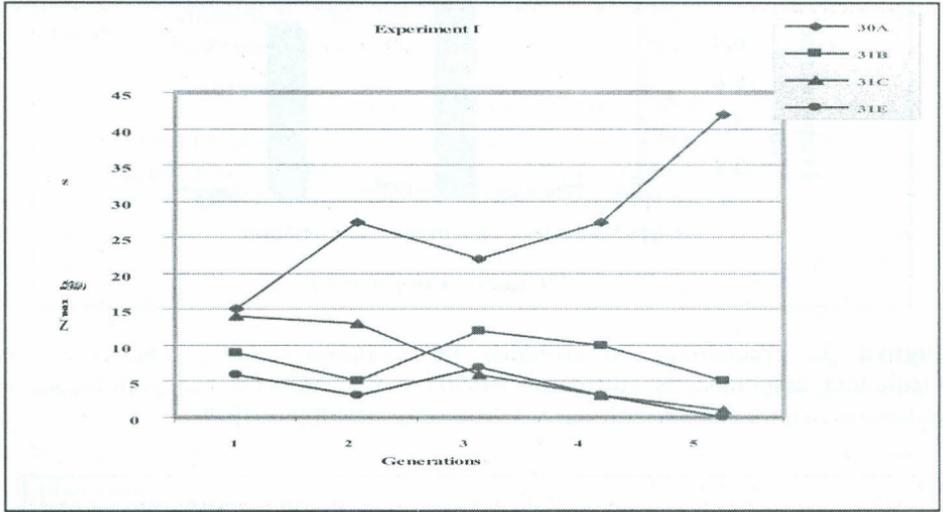


Figura 1. Alterações na composição de uma mistura de quatro raças de *Colletotrichum sublineolum* inoculadas em uma cultivar de sorgo suscetível em cinco gerações de competição.

Observou-se também uma possível influência dos restos culturais do genótipo de sorgo, plantado anteriormente, na constituição genética da população do patógeno que irá servir como fonte de inóculo primário para o plantio seguinte. Para ilustrar este fato, vamos considerar a estrutura de virulência das populações de *C. graminicola* que se desenvolveram em plantios das cultivares CMSXS210, BR009 e BR008. Na cultivar CMSXS210, houve uma predominância de raças com virulência associada a este genótipo e à cultivar BR008 e ao mesmo tempo avirulentas à BR009. Situação oposta foi verificada em áreas plantadas com as cultivares BR009 e BR008, ou seja, nas populações de *C. graminicola* que se desenvolveram nestas cultivares, observou-se uma baixa frequência de raças com virulência associada às cultivares BR008 e CMXS210 (**Figura 2**). Considerando-se o desenvolvimento da antracnose na cultivar CMS210, por exemplo, observou-se uma maior severidade doença em plantios contínuos deste genótipo quando comparada

com a severidade de doença em plantio desta cultivar em rotação com a cultivar BR009 e em rotação com a cultivar BR008 (Figura 3).

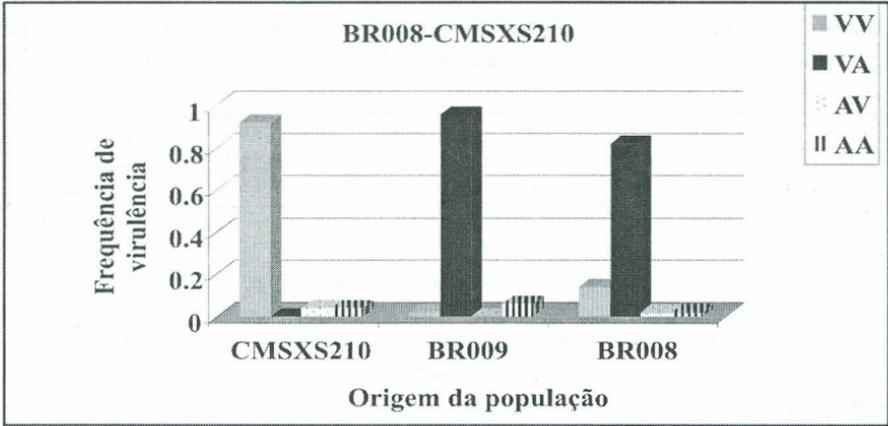


Figura 2. Frequência de isolados de *Colletotrichum graminicola* com virulência associada às cultivares BR008 e CMSXS210, em populações do patógeno originadas das cultivares CMXS210, BR009 e BR008.

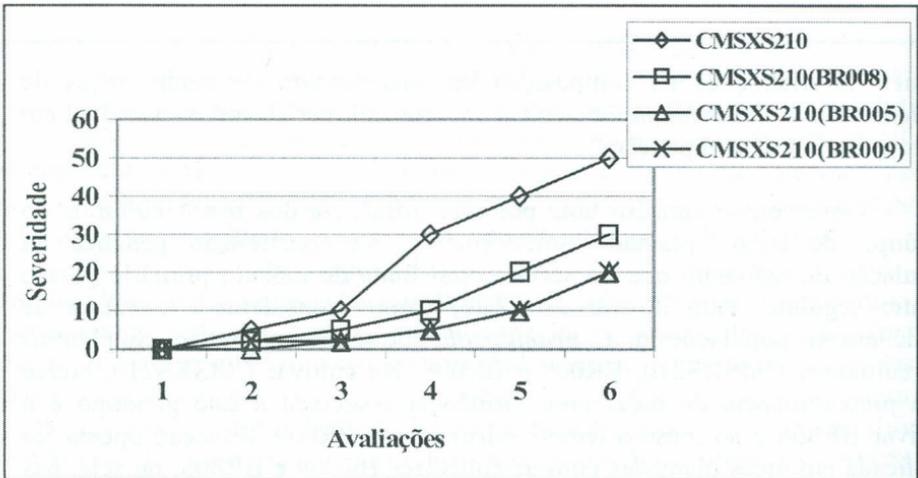


Figura 3. Progresso de antracnose na cultivar CMSXS210 em plantio contínuo (CMSXS210) e em sucessão às cultivares BR008, BR005 e BR009.

Tais diferenças podem ser explicadas pelo fato de que a população do patógeno desenvolvida em BR009 e em BR008 apresentava, em sua estrutura, uma baixa frequência de raças virulentas a CMSXS210. É possível que esta constituição tenha sido preservada nos restos culturais das referidas cultivares, o que determinou, como consequência, uma fonte de inóculo primário com uma baixa proporção de raças virulentas a CMXS210. Trabalhos que caracterizem a diversidade populacional do patógeno em restos culturais estão sendo conduzidos na Embrapa Milho e Sorgo para confirmarem esta hipótese.

PIRAMIDAÇÃO DE GENES

A piramidação de genes para resistência às doenças em sorgo vem sendo utilizada aproveitando-se o processo de geração de híbridos simples, buscando-se identificar combinações efetivas de resistência pela combinação de linhagens para as quais não exista virulência associada na população do patógeno. Por exemplo, raças de *C. sublineolum* não expressam virulência associada às cultivares SC283 e SC748-5 simultaneamente. Verificou-se também pela análise da estrutura de virulência de *C. sublineolum*, um alto grau de dissociação de virulência aos genótipos SC748-5 e Tx378 na população do patógeno. Combinações de linhagens com estas características podem resultar em híbridos com uma resistência vertical de maior durabilidade (Casela et al., 1996). A expressão de um baixo nível de severidade de doença em híbrido simples resultantes da combinação de determinadas linhagens, podendo ter resultado de uma baixa agressividade de raças com virulência associada aos genótipos componentes do híbrido ou pelo acúmulo de diversos genes de resistência resultando em um nível elevado de resistência horizontal (Silva, 2006). Este modelo de piramidação apresenta também um potencial de utilização para a cultura do milho quando se trabalha na geração de híbridos simples. Dissociação de virulência foram já observadas em linhagens elites de milho em relação a isolados de *Puccinia polysora*, agente causal da ferrugem polissora do milho (Tabela 1).

Tabela 1. Associações de virulência e de avirulência a linhagens de milho entre isolados de *Puccinia polysora*.

Cultivar/Ano	Fenótipos Observados			
	V:V	V:A	A:V	A:A
L511:L420	0,00	11,00	9,00	25,00
L511:L527	0,00	11,00	4,00	30,00
L1199:L420	0,00	11,00	9,00	25,00
L1199:L527	0,00	11,00	4,00	30,00
L1199:L536	0,00	11,00	5,00	29,00
L420:L527	0,00	9,00	4,00	32,00

MISTURAS GENÉTICAS

Uma possibilidade de utilizar ou de se adaptar esta estratégia em milho seria a incorporação de genes de resistência diferentes nas linhagens componentes de um determinado híbrido duplo ou triplo, de forma que teríamos um híbrido duplo ou triplo cuja população de plantas estaria segregando para os genes de resistência, funcionando, portanto, como uma multi-linha ou como uma mistura de variedade, estritamente, do ponto de vista dos genes para resistência a determinada doença.

Esta alternativa vem sendo testada como uma alternativa para o manejo da resistência à antracnose do sorgo. Foram inicialmente feitas avaliações de linhagens de sorgo com resposta diferencial a isolados de *C. sublineolum* quanto à sua capacidade de reduzir a severidade da antracnose quando em misturas. Ao mesmo tempo avaliou-se a capacidade de resposta do patógeno a estas misturas quanto ao desenvolvimento de raças de alta complexidade. A severidade de doença foi significativamente reduzida em todos os genótipos suscetíveis quando combinados em misturas com genótipos resistentes. Em todas as misturas observou-se também uma redução na diversidade do patógeno em relação aos estandes puros de cada componente de uma determinada mistura e um aumento na frequência de raças de alta complexidade (**Figure 4**). O desenvolvimento de raças complexas não resultou em redução na capacidade da mistura de reduzir a severidade de antracnose (Valério, 2004). Tal fato pode ter sido determinado por uma menor agressividade das raças, já que diferenças na capacidade competitiva de raças deste patógeno com diferentes níveis de complexidade têm sido demonstradas (Casela et al., 2001).

Em um outro estudo híbridos triplos de sorgo foram desenvolvidos com as linhagens utilizadas em misturas. Para a obtenção dos híbridos triplos, híbridos simples macho-estéreis foram gerados pelo cruzamento entre uma linhagem A macho-estéril e uma linhagem B fértil (não restauradora). Um total de 18 híbridos triplos foram obtidos pelo cruzamento entre seis híbridos F1 macho-estéreis e três linhagens restauradoras de fertilidade (R). Foram observadas variações no nível de resistência entre os híbridos triplos avaliados, os quais foram separados em três grandes grupos: suscetíveis, intermediários e resistentes. As linhagens utilizadas para a composição dos híbridos contribuíram diferentemente para o nível de resistência de cada híbridos (Costa, 2004).

Todos os cruzamentos como progenitor masculino CMSXS169R resultaram em híbridos altamente resistentes, enquanto metade dos híbridos formados com a linhagem CMSXS116R apresentaram alta resistência a *C. graminicola*. Alguns híbridos apresentaram um nível de resistência superior ao das linhagens que entraram na sua composição (**Figura 1**).

Misturas genéticas pode ser também uma alternativa para o manejo de doenças na cultura do milho, considerando-se que existe ainda um segmento considerável do mercado de sementes que é consumidos de híbridos triplos e duplos. Híbridos triplos ou duplos formados pela combinação de linhagens com diferentes genes de resistência a determinado patógeno poderiam ser desenvolvidos aliando-se características agrônomicas desejáveis com resistência conferida pelos genes de cada linhagem componente. Híbridos triplos de alta resistência à antracnose (*C. graminicola*) resultantes de combinação de linhagens com diferentes níveis de resistência já foram identificados (Alves, 2006) indicando que esta pode ser uma estratégia promissora para o controle de doenças de milho, sendo importante que os programas melhoramento genético geração de novas linhagens ou para a incorporação de genes de resistência em linhagens já elites já utilizadas pelos programas.

COMENTÁRIOS FINAIS

A utilização de resistência quantitativa no manejo de doenças na cultura do milho, já vem sendo utilizada de forma mais intensa, sendo a seleção de materiais geneticamente resistentes realizada, muitas vezes, sem um conhecimento adequado sobre a população do patógeno e sobre o seu controle genético. Alguns autores consideram que a maior estabilidade desta forma de resistência está na sua natureza poligênica, uma vez que para se adquirir a capacidade de vencer esta resistência, uma raça teria que vencer a resistência condicionada por diversos genes. Estudos sobre a genética da resistência a algumas doenças em milho, contudo, indicaram um controle exercido por poucos genes com a predominância de ação gênica aditiva. Dois aspectos devem ser considerados na utilização desta resistência de forma intensiva no manejo de doenças em milho: o primeiro é a necessidade de se avaliar a possibilidade de o patógeno se adaptar a esta resistência pelo desenvolvimento de raças mais adaptadas, ou seja, raças mais agressivas a cultivares resistentes, e o segundo é a sua estabilidade em relação a diferentes populações do patógeno, ou seja, a possibilidade de que pelo menos parte desta resistência seja do tipo vertical incompleta. A existência deste tipo de interação e, provavelmente, mais comum em patossistemas envolvendo as culturas de milho e sorgo, do que o que se conhece atualmente. Tal fato não reduziria a importância desta forma de resistência para o manejo de doenças na cultura do milho, mas implicaria na necessidade de se colocar ênfase na possibilidade de se utilizar estratégias alternativas, com já discutido anteriormente. Na cultura do sorgo, problemas relacionados à variabilidade de patógenos como uma dificuldade na utilização da resistência genética, são por demais conhecidos, principalmente no que diz respeito a *C. sublineoullum*, agente causal da antracnose, a principal doença da cultura do sorgo no Brasil.

É possível utilizar a resistência vertical de forma eficiente para o manejo de doenças em milho? Esta questão merece uma maior atenção do que aquela que tem recebido até o momento. É preciso considerar a possibilidade de que o plantio de cultivares com níveis mais elevados de resistência horizontal resulte em uma adaptação do patógeno como referido anteriormente. Um outro ponto importante é o fato de o plantio de milho no Brasil ser realizado de forma quase contínua, o que tende a favorecer o aumento do potencial de inóculo de raças já existentes e a rápida disseminação de novas raças com maior agressividade, podendo em médio prazo, fazer com que mesmo os níveis de resistência horizontal sejam insuficientes para o controle da doença. Há necessidade de que estes aspectos sejam melhor avaliados por parte da pesquisa para que a utilização desta forma de resistência seja feita em bases mais científicas. De qualquer maneira, tanto em milho quanto em sorgo, é importante se evitar que as pressões de seleção colocadas sobre patógenos em passado recente sejam evitadas nestas culturas. Considerando-se que ainda não atingimos tais níveis de pressão de seleção, trabalhos de caracterização da variabilidade existente nas populações destes patógenos e da extensão e distribuição dos genes de virulência nos diferentes agroecossistemas onde se situam as culturas de milho e de sorgo e um aspecto de fundamental importância. É também vital que uma avaliação constante da capacidade de resposta dos patógenos às diferentes estratégias de utilização da resistência discutidas anteriormente. Tais informações poderão constituir a base para a utilização da resistência genética de forma segura evitando-se perdas resultantes da quebra de resistência.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADUGNA, A. Alternate approaches in deploying genes for disease resistance in crop plants. *Asian Journal of Plant Sciences* 3 (5): 618 – 623. 2004.
- ALEXANDER, H. M., GROTH, J. V., & ROELFS, A. P. Virulence changes in *Uromyces appendiculatus* after five asexual generations on a partially resistant cultivar of *Phaseolus vulgaris*. *Phytopathology* 75: 449 – 453. 1985.
- ANTONOVICS, J., & ALEXANDER, H. M. The concept of fitness in plant pathogen systems. In: *Plant Disease Epidemiology*. K. J. Leonard & W. E. Fry. (eds.). Pp. 185 – 214. New York. McGraw-Hill. 1989.
- BARBOSA, F. C. R. Variabilidade patogênica em *Peronosclerospora sorghi* (Weston & Uppal) C. G. Shaw, agente etiológico do mildio do sorgo e resistência genética no hospedeiro. (Dissertação de Mestrado). Lavras. Universidade Federal de Lavras. 2004.

- BRONSON, C. R., & ELLINGBOE, A. H. The influence of four unnecessary genes for virulence on the fitness of *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici*. *Phytopathology* 76: 154 – 158. 1986.
- BROWN, J. F., & SHARP, E. L. The relative survival ability of pathogenic types of *Puccinia striiformis* in mixtures. *Phytopathology* 60: 529 – 533. 1970.
- CASELA, C. R. & FERREIRA, A. S. Variability in isolates of *Puccinia polysora* in Brazil. *Fitopatologia Brasileira* 27: 414 – 416. 2002.
- CASELA, C. R., & FREDERIKSEN, R. A. Survival of *Colletotrichum graminicola* sclerotia in sorghum stalk residue. *Plant Disease* 77: 825-827. 1993.
- CASELA, C.R., FERREIRA, AS. & BRANCÃO, N. Variabilidade e estrutura de virulência em *Colletotrichum graminicola* em sorgo. *Fitopatologia Brasileira* 21(3): 357-361. 1996.
- CASELA, C. R., FERREIRA, A. S. & SANTOS, F. G. Rotação de genes no manejo da resistência genética a *Colletotrichum graminicola*, agente causal da antracnose do sorgo. *Fitopatologia Brasileira* 29 (Suplemento): 36. 2004.
- CATEN, C. E. Intra-racial variation in *Phytophthora infestans* and adaptation to field resistance for potato blight. *Ann. Appl. Biol.* 77: 259 – 270. 1974.
- CHEN H. L., CHEN, B. T., ZHANG, D. P., XIE, Y. F., ZHANG, Q. Pathotypes of *Pyricularia grisea* in rice fields of Central and Southern China. *Plant Disease* 85: 843 – 850. 2001
- CRAIG, J. & ODVODY, G.N. Current status of sorghum downy mildew control. In: de MILLIANO, W. A. J.; FREDERIKSEN, R. A. & BERGSTON, G. D. (eds.). *Sorghum and millet diseases: a second world review*. Patancheru, Índia: Internacional Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, p.213-217. 1992.
- CRAIG, J., & FREDERIKSEN, R. A. Pathotypes of *Peronosclerospora sorghi*. *Plant Disease* 64: 778 – 779. 1980.
- CRAIG, J & FREDERIKSEN, R.A. Differential sporulation of pathotypes of *Peronosclerospora sorghi* on inoculated sorghum. *Plant Disease*, v.67, n.3, p.278-279. 1983.
- CRILL, P. An assessment of stabilizing selection in crop variety development. *Annual Review of Phytopathology* 15:165 – 202. 1977.
- FRY, W. E. 1982. *Principles of Plant Disease Management*. Academic Press, New York, London. 378pp.

- GRANT, M. W., & ARCHER, S. A. Calculation of selection coefficients against unnecessary genes for virulence from field data. *Phytopathology* 73:547 – 551. 1983.
- HILTY, J. W., HADDEN, C. H., & GARDEN, F. T. Response of maize hybrids and inbred lines to gray leaf spot disease and the effects on yield in Tennessee. *Plant Disease Reporter* 63 (60): 515 – 518. 1979.
- LEACH, J. E., VERA CRUZ, C. M., BAI, J., LEUNG, H. Pathogen fitness as predictor of durability of disease resistance genes. *Annual Review of Phytopathology* 39:187 – 224. 2001.
- LEONARD, K.J. Genetic equilibria in host – pathogen systems. *Phytopathology* 59: 1858 – 1863. 1969.
- LEONARD, K. J. Theory of genetic interactions among populations of plant and their pathogens. *Annual Review of Phytopathology* 18: 237 – 258. 1980.
- LEONARD, K. J. 1997. Modeling gene frequency dynamics. In: *The Gene – for – Gene Relationships in Plant – Parasite Interactions*. I. R. Crute, E. B. Holub, J. J. Burdon (eds). Pp. 211 – 230. London, CAB Int.
- LEUNG, H., NELSON, R. J., LEACH, J. E. Population structure of plant pathogenic fungi and bacteria. In: *Advances in Pathology*. J. H. Andrews, I. C. Tomerup (eds.). Pp. 157 – 205. New York. Academic Press. 1993
- MARTENS, J. W. Competitive ability of oat stem rust races in mixtures. *Can. J. Bot.* 51: 2333- 2336. 1973.
- McDONALD, B. A. & LINDE, C. Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. *Annual Review of Phytopathology* 40: 349 – 379. 2002.
- NELSON, R. R. *Breeding Plants for Disease Resistance: Concepts and Applications*. University Park. Penn. State Univ. Press. 401pp. 1973.
- NELSON, R. R. The evolution of parasitic fitness. Chapter 2. *Plant Disease* Vol. IV. J. G. Horsfall, E. B. Cowling (eds.) Pp 23 – 46. New York Academic. 1979.
- NELSON, R. R. & SCHEIFELL, G. L. Factors affecting the overwintering of *Trichometasphaeria turcica* on maize. *Phytopathology* 60: 639 – 670. 1970.
- OGLE, H. J., & BROWN, J. F. Relative survival ability of two strains of *Puccinia graminis tritici* to survive when mixed. *Ann. Appl. Biol.* 66: 273 – 279. 1970.

- OGLE, H. J., & BROWN, J. F. Some factors affecting the relative survival ability of two strains of *Puccinia graminis tritici* to survive when mixed. *Ann. Appl. Biol.* 67: 157 - 168. 1971.
- OSORO, M. E., & GREEN, G. J. Stabilizing selection in *Puccinia graminis tritici* in Canada. *Can. J. Bot.* 54: 2204 - 2214. 1976.
- PARLEVLIET, J. E. Stabilizing selection in crop pathosystems: an empty concept or a reality? *Euphytica* 30: 259 - 269. 1981a.
- PARLEVLIET, J. E. Disease Resistance in Plants and its Consequences for Plant Breeding. In: K. J. Frey (ed.) *Plant Breeding II*. The Iowa State University Press. Ames. Pp. 309 - 364. 1981b.
- PAWAR, M.N. Pathogenic variability and sexuality in *Peronosclerospora sorghi* (Weston and Uppal) Shaw, and comparative nuclear cytology of *Peronosclerospora* sp. Texas, A & M University Ph D thesis 107 p. 1986.
- ROBERT, A. L. Host range and races and the corn rusts. *Phytopathology* 52: 1010 - 1012. 1962.
- RYLAND, A. K. & STOREY, H. H. Physiological races of *Puccinia polysora* Underw. *Nature*, 176: 655 - 656. 1955.
- SCHEIFELEL, G. L., NELSON, R. R., & WERNHAM, C. C. Studies on stabilizing selection in *Trichometasphaeria turcica* (*Helminthosporium turcicum*). *Plant Disease Reporter* 52 (6): 27 - 30. 1968.
- SILVA, D. D. Resistência de híbridos de sorgo a *Colletotrichum sublineolum*: previsibilidade por meio da reação de linhagens progenitoras. Lavras, 2006. 124. [Dissertação (mestrado) - Departamento de Fitopatologia/UFLA].
- TATUM, L. A. The southern corn leaf blight epidemic. *Science* 171: 1113 - 1116. 1971.
- THURSTON, H. D. The relative survival ability of races of *Phytophthora infestans* in mixtures. *Phytopathology* 51: 748 - 755. 1961.
- VALÉRIO, H. M. Variability of the anthracnose fungus *Colletotrichum graminicola* in sorghum genotype mixtures. *Fitopatologia Brasileira* 29: 567 - 569. 2004.
- VANDERPLANK, J. E. *Disease Resistance in Plants*. London, New York. Academic Press. 206pp. 1968.
- VANDERPLANK, J. E. *Host - Pathogen Interactions in Plant Diseases*. New York. Academic Press. 207pp. 1982.
- VANDERPLANK, J. E. *Disease Resistance in Plants*. Orlando. Academic Press. 194pp. 1984.

- VIZVARY, M. A., & WARREN, H. L. Saprophytic survival of *Colletotrichum graminicola* in soil. *Phytopathology* 72: 522 – 525. 1982.
- WARD, J. M. J., & NOWELL, D. C. Integrated management practices for the control of maize grey leaf spot. *Integrated Pest Management Reviews* 3: 177 – 188. 1988.
- WATSON, I. A., & LUIG, N. H. Progressive increase in virulence in *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*. *Phytopathology* 58: 70 – 73. 1968.
- WHITE, D. G., YANNEY, J., & ANDERSON, B. Variation in pathogenicity, virulence, and aggressiveness of *Colletotrichum graminicola* on corn. *Phytopathology* 77: 999 – 1001. 1987.
- WOLFE, M. S., BARRET, J. A. Can we lead the pathogen astray? *Plant Disease* 70: 148 – 155. 1980.
- YEH, C. C. Studies on rusts of maize. *Journal of Agricultural Research of China*. 35: 81- 93. 1986.