

Resistência de genótipos de sorgo a mancha foliar causada por *Ramulispora sorghi*¹

Victor Luiz Alves Guedes², Luciano Viana Cota³, Dagma Dionísia da Silva³,
Rodrigo Veras da Costa³

¹ Trabalho financiado pelo CNPq

² Estudante do Curso de Engenharia Ambiental e Sanitária do Centro Universitário de Sete Lagoas, Bolsista PIBIC do Convênio CNPq/Embrapa

³ Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo

Introdução

O sorgo está entre os cinco cereais mais produzidos em todo o mundo. Por apresentar maior tolerância a estresses ambientais e grande potencial de produção de grãos e matéria seca, a cultura do sorgo vem expandindo-se expressivamente nos últimos anos. Apesar de estar entre os maiores produtores mundiais de sorgo, o Brasil ainda detém baixos níveis de produtividade. Entre os fatores que contribuem para esta baixa produtividade no país, estão as doenças. As principais patologias que incidem sobre esta cultura são: a antracnose, o míldio, a helmintosporiose, a ferrugem, o ergot e a podridão seca (COTA et al., 2010; FERREIRA et al., 2007).

No Brasil, tem sido verificada a ocorrência frequente da mancha de ramulispora em algumas lavouras e, em alguns casos, com alta intensidade (FERREIRA et al., 2007). A mancha de ramulispora é caracterizada por causar lesões foliares necróticas de formato oval-alongado medindo de 5 a 14 cm de comprimento e 1 a 2 cm de largura. Essas lesões são circundadas por um halo amarelado e apresentam produção de numerosos microescleródios que se assemelham a fuligem devido a sua coloração escura (BANDYOPADHYAY, 2000; BRADY et al., 2011; FERREIRA et al., 2007; WILLIAMS et al., 1978).

A resistência genética é uma das mais importantes medidas de controle de doenças em sorgo, visto que é um método de controle economicamente viável e de fácil utilização (MICHEREFF, 2001). Contudo, os programas de melhoramento, até o momento, não têm buscado fontes de resistência a *R. sorghi*, o que está relacionado à ocorrência da doença no Brasil em alta intensidade e severidade. A falta de informação sobre a resistência de linhagens de sorgo e das cultivares comerciais também ocorre sobre o patógeno, no que diz respeito principalmente a sua variabilidade. Portanto, os objetivos deste trabalho foram caracterizar a resistência de linhagens e híbridos de sorgo a isolados de *R. sorghi*, avaliados através de componentes de resistência, e identificar fontes de resistência à doença.

Material e Métodos

Os experimentos foram conduzidos na Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas, MG. Foram realizados dois experimentos em casa de vegetação, em que dois isolados de *R. sorghi* (R01 e R02) foram inoculados em 23 genótipos de sorgo, entre híbridos graníferos e forrageiros e suas linhagens parentais.

Ambos os isolados foram amostrados no campo experimental da Embrapa Milho e Sorgo, em folhas de sorgo que apresentavam lesões da doença. Para obtenção de culturas puras e monospóricas dos isolados, fragmentos das bordas das lesões foram desinfestados em álcool 70% por 1 minuto, seguido de solução de hipoclorito de sódio a 2% por 2 minutos e em seguida lavados com água destilada estéril para retirada do excesso de hipoclorito. Os fragmentos foliares foram transferidos para placas de Petri contendo meio farinha de aveia e estas foram mantidas em câmara de crescimento com temperatura de 27 °C e fotoperíodo de 12 horas, durante aproximadamente 10 dias.

Após o crescimento das colônias de *R. sorghi*, um fragmento foi colocado em tubo de ensaio contendo 9 mL de água deionizada estéril seguindo-se uma diluição em série até 10^{-3} para obtenção de suspensões de esporos com a concentração de 50-100 conídios/mL. Um mililitro dessa suspensão de conídios foi espalhado em placas de Petri contendo meio AA (Ágar-Água) e mantidas em câmara de crescimento sob condição de fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 27 °C durante 12 horas, para induzir a germinação dos conídios. Conídios germinados foram retirados individualmente do meio AA, sob microscópio óptico, e transferidos para tubos de ensaio contendo meio Farinha de aveia. Após o desenvolvimento das colônias foram adicionados 10 mL de óleo mineral estéril para preservação das culturas até o momento da produção de inóculo.

No experimento 1, visando a produção do inóculo, o isolado 01 (R01) foi transferido do óleo mineral para placas de Petri com meio Raulin modificado e incubado a 27 °C com fotoperíodo de 12 horas, por 10 dias. Após esporulação, os conídios foram colhidos, adicionando-se água estéril em cada placa, seguindo-se uma raspagem superficial da cultura para liberação dos conídios. Esta solução foi filtrada em gaze e sua concentração foi ajustada para 10^5 conídios/mL com auxílio de câmara de Neubauer.

No experimento 2, para produzir o inóculo do isolado 02 (R02), lesões com sintomas e sinais da doença produzidas por inoculação artificial foram coletadas e levadas ao laboratório onde foram raspadas com lâmina e suspensas em água deionizada. Esta suspensão foi ajustada para 10^5 conídios/mL com auxílio de câmara de Neubauer. Após 22 dias do plantio as plantas foram inoculadas utilizando-se pulverizador manual. Estas foram mantidas em casa de vegetação e durante as primeiras 24 horas permaneceram sob nebulização.

Para a avaliação dos componentes de resistência dos isolados, foram avaliados o período de incubação e o período latente. O período de incubação (PI) foi considerado como o tempo em dias decorridos da inoculação até o aparecimento dos primeiros sintomas, e o período latente (PL) foi considerado como o tempo em dias decorridos da inoculação até a esporulação, verificada com auxílio de uma lupa (10x aumento). A severidade da doença foi avaliada 25 dias após a inoculação por meio da escala de notas de Mohammad e Mahmood (1973) com notas de severidade variando de 0 a 5, onde: 0= plantas sem sintoma; 1=até 20%; 2= 21 a 40%; 3= 41-60%; 4=61-90% e 5= 91-100 %. Para as análises estatísticas os valores das notas foram convertidos em ponto médio de severidade para cada nota: 0=0% severidade, 1=10%, 2=30,5%, 3=50,5%, 4=75,5% e 5=95,5%.

Os dados de severidade foram submetidos à análise de variância e teste de médias segundo Scott & Knott, ao nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o programa SISVAR 5.1 Build 72 (FERREIRA, 2008). Para a análise de correlação de Pearson foi utilizado o programa Minitab 14.0.

Resultados e Discussão

Para a variável severidade houve diferença significativa na reação dos genótipos de sorgo a ambos os isolados de *R. sorghi*. Ao isolado R01, os híbridos BRS 655, BRS 330 e as linhagens CMSXS 222, CMSXS 233, CMSXS 180 foram considerados os mais resistentes. Os híbridos BR001, 0307-343, Volumax, Catuy, Buster, BR 610, BRS 308, BRS 310 e as linhagens ATF54 e 9929036 apresentaram a maior severidade, demonstrando reação de suscetibilidade. Os demais genótipos apresentaram reação moderada de resistência. O período de incubação para este isolado variou entre 14 e 17 dias e o período latente entre 16 e 18 dias. Para ambas as variáveis não houve diferença significativa entre os genótipos. Os híbridos BRS 330, BR 655 e as linhagens CMSXS 180, CMSXS 233 e CMSXS 222 não haviam apresentado sintomas e sinais da doença aos 25 dias após a inoculação, quando a severidade final foi avaliada.

Para o isolado R02, considerando a variável severidade, foi observada resistência dos híbridos BR 655 e BRS 330. Entre as linhagens, além de CMSXS 233, CMSXS 222, CMSXS 180, resistentes ao isolado R01, também apresentaram resistência 953062, e BR 012. Quanto à reação de suscetibilidade, os híbridos BR 610, Volumax e Catuy se mostraram mais suscetíveis. Os demais genótipos apresentaram reação de resistência moderada. O período de incubação do patógeno variou entre 14 e 18 dias. Para este isolado foi observada diferença significativa entre os genótipos, sendo BRS 304, ATF 14, CMSXS 180 e BR 012 os que apresentaram maiores valores para PI. A média do período latente foi de 18 dias e não houve diferença significativa entre os genótipos.

Houve correlação positiva e significativa entre PI, PL e severidade da doença em ambos os experimentos. As maiores correlações foram observadas entre PI e PL e as menores entre PI e severidade. Segundo Wesp (2005), períodos de incubação e latência mais longos estão relacionados com uma menor severidade final da doença no campo. Este fato não foi observado no presente trabalho. Como no ensaio em casa de vegetação foi analisado apenas um ciclo de geração do patógeno, é esperada esta ausência de correlação negativa entre as referentes variáveis.

A combinação de componentes de resistência, tais como maior período de incubação, maior período latente tem efeito sobre a redução da taxa de progresso da doença. Os maiores valores de PI e PL indicam maior resistência do hospedeiro, resultando em um número menor de ciclos da doença (WESP, 2005). Entre as variáveis analisadas, a severidade mostrou maior capacidade de distinção dos genótipos testados, em ambos os experimentos. Por esta razão, e pela praticidade na avaliação, a severidade é considerada a variável mais eficiente e viável para a avaliação da resistência de genótipos de sorgo a *R. sorghi*.

Em ambos os experimentos, os híbridos BR 655, BRS 330 e as linhagens CMSXS 222, CMSXS 233 e CMSXS 180 expressaram alto nível de resistência a *R. sorghi*, apresentando maior período latente, maior período de incubação e menor severidade.

Nos híbridos considerados resistentes, pelo menos um dos pais também apresentou reação de resistência. Da mesma forma, os híbridos que demonstraram reação de resistência moderada ou suscetibilidade, apresentaram um ou os dois parentais com a mesma característica. Exceção foi detectada para o híbrido BRS 308. Neste caso, a linhagem CMSXS 233 apresentou resistência aos dois isolados testados, e a linhagem BR 012 apresentou-se moderadamente resistente para o isolado R01 e resistente para o

isolado R02. No entanto, o híbrido BRS 308 apresentou reação de suscetibilidade. O mesmo ocorreu com os híbridos suscetíveis 0307-343 e BR 310, em que a reação dos progenitores foi de resistência moderada X resistência moderada e resistência moderada X resistente, respectivamente. Entretanto é recomendável a repetição da caracterização da resistência dos genótipos que apresentaram diferença de reação entre os híbridos e as linhagens formadoras, para aumentar ainda mais a confiabilidade dos resultados.

Dentre as linhagens consideradas resistentes, destaca-se CMSXS 180, que juntamente com ATF14 (moderadamente resistente) são progenitoras do híbrido BRS330, resistente à doença. O cruzamento desta mesma linhagem com ATF 08 (moderadamente resistente) gerou o híbrido BRS 332 que em estudo realizado por Ramos et al., (2012) apresentou reação de resistência. Segundo os autores isso indica que o gene de resistência presente na linhagem CMSXS 180 foi dominante e que esta apresenta potencial como fonte de resistência genética. Para o melhoramento de plantas é dado destaque à escolha específica dos progenitores, que devem possuir as fontes de resistência à doença de interesse e a avaliação da reação das progênies ao patógeno (YORINORI; KIIHL, 2001).

A transmissão de características genéticas via cruzamento entre diferentes genótipos depende diretamente da herdabilidade genética. Genes dominantes têm maior probabilidade de serem expressos em relação aos genes recessivos, como notado no presente trabalho. Haussman et al. (2001) observaram que os genótipos de sorgo testados apresentaram resultados que indicam alta herdabilidade para a resistência ao patógeno *R. sorghi*, indicando boas perspectivas em programas de melhoramento.

Considerando que a mancha de ramulispora é uma doença cuja incidência tem aumentado nos últimos anos, e que a resistência genética é a medida de manejo mais eficiente do ponto de vista econômico e ambiental, é importante que sejam realizados outros trabalhos com um número maior de isolados de *R. sorghi*, amostrados outras regiões no Brasil. A utilização de um maior número de isolados do patógeno em inoculações de linhagens e híbridos e o conhecimento da variabilidade do patógeno em condições de campo, poderão validar os resultados alcançados no presente trabalho e gerar informações sobre a estabilidade desta resistência, a reação de cultivares em diferentes locais e diferentes populações do patógeno. Os resultados obtidos no presente estudo poderão ser usados em programas de melhoramento genético de sorgo visando obtenção de cultivares resistentes a *Ramulispora sorghi*, possibilitando a redução dos riscos de prejuízos para os produtores de sorgo devido a ocorrência de epidemias da doença.

Conclusão

Os genótipos BR 655, CMSXS 222, CMSXS 233, BRS 330, CMSXS 180 apresentaram maiores níveis de resistência a *R. sorghi*. Os genótipos BR001, 0307-343, Buster, BRS 308, BRS 310, ATF 54 e 9929036 apresentaram suscetibilidade ao isolado R01 e os genótipos Volumax, Catuy BR 610 foram suscetíveis a ambos os isolados. A linhagem CMSXS 180 apresenta potencial para ser utilizada como fonte de resistência a doença em programas de melhoramento. A severidade é uma das melhores variáveis para a avaliação da resistência de genótipos de sorgo a *R. sorghi*. Houve alta correlação entre as variáveis: período de incubação, período latente e severidade.

Referências

BANDYOPADHAY, R. Sooty stripe. In: FREDERIKSEN, R. A. (Ed.). **Compendium of sorghum diseases**. St. Paul: American Phytopathological Society, 2000. p. 14-15.

BRADY, C. R.; NOLL, L. W.; SALEH, A. A.; LITTLE, C. R. Disease severity and microsclerotium properties of the sorghum sooty stripe pathogen, *Ramulispora sorghi*. **Plant Disease**, St. Paul, v. 95, p. 853-859, 2011.

COTA, L. V.; COSTA, R. V.; SILVA, D. D.; PARREIRA, D. F. **Recomendação para o controle químico da helmintosporiose do sorgo (*Exserohilum turcicum*)**. Sete Lagoas. Embrapa Milho e Sorgo, 2010. 7 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular técnica, 325).

FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, Lavras, v. 6, p. 36-41, 2008.

FERREIRA, A. S.; CASELA, C. R.; PINTO, N. F. J. A. **Manejo de doenças na cultura do sorgo**. Sete Lagoas. Embrapa Milho e Sorgo, 2007. 20 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular técnica, 89).

GIRARD, J. C. A review of sooty stripe and rough, zonate, and oval leaf spots. In: SORGHUM diseases: a world review. India: [s.n.], 1978. p. 127-140.

HAUSSMANN, B. I. G.; HESS, D. E.; SISSOKO, I.; KAYENTAO, M.; REDDY, B. V. S.; WELZ, H. G.; GEIGER, H. H. Diallel analysis of sooty stripe resistance in sorghum. **Euphytica**, Wageningen, v. 122, p. 99-104, 2001.

MICHEREFF, S. J. **Fundamentos de fitopatologia**. Recife: [s.n.], 2001.

OLIVE, L. S.; LEFEBVRE, C. L.; SHERWIN, H. S. The fungus that causes sooty stripe of *Sorghum spp.* **Phytopathology**, St. Paul, v. 36, p. 190-200, 1946.

RAMOS, T. C. D. A.; COTA, L. V.; SILVA, D. D.; COSTA, R. V.; LANZA, F. E.; NICOLI, A.; COSTA, G. M. C.; MOURA, L. O.; CORRÊA, C. L.; MARCONDES, M. Resistência de sorgo á *Ramulispora sorghi*. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 29., 2012, Águas de Lindóia. **Diversidade e inovações na era dos transgênicos: resumos expandidos**. Campinas: Instituto Agrônômico; Sete Lagoas: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2012. p. 761-767.

THAKUR, R. P.; FREDERIKSEN, R. A.; MURTY, D. S.; REDDY, B. V. S.; BANDYOPADHYAY, R.; GIODA, L. M.; ODVODY, G. N.; CLAFLIN, L. E. Breeding for disease resistance in sorghum. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON GENETIC IMPROVEMENT OF SORGHUM AND PEARL MILLET, 1996, Lubbock, Texas. **Proceedings**. Cali: INTSORMIL: ICRISAT, 1997. p. 303-315. (Publication, 97-5).

THOMAS, M. D.; BOCOUM, F.; THERA, A. Field inoculations of sorghum with sclerotia and conidia of *Ramulispora sorghi* formed *in vivo*. **Mycologia**, New York, v. 85, p. 807-810, 1993.

YORINORI, J. T.; KIIHL, R. A. S. Melhoramento de plantas visando resistência a doenças. In: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S.; INGLIS, M. C. V. **Recursos genéticos e melhoramento**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001.

WILLIAMS, R. J.; FREDERIKSEN, R. A.; GIRARD, J. C. **Sorghum and pearl millet disease identification handbook**. Hyderabad: ICRISAT, 1978. 88 p. (ICRISAT. Information bulletin, 2).

WESP, C. L. Componentes de resistência quantitativa á ferrugem da folha em linhagens recombinantes de aveia. 2005. 84 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.