

ANTRACNOSE (*Colletotrichum graminicola*): RESISTÊNCIA GENÉTICA EM SORGO E DIVERSIDADE GENÉTICA NO PATÓGENO.

Carlos Roberto Casela⁽¹⁾; Alexandre da Silva Ferreira⁽¹⁾ & Fredolino Giacomini dos Santos⁽¹⁾.

Palavras-chave: *Sorghum bicolor*, antracnose, variabilidade, virulência.

A antracnose, causada por *Colletotrichum graminicola*, é uma das mais importantes doenças da cultura do sorgo no Brasil pela sua ampla disseminação, severidade e capacidade de causar danos à cultura em cultivares suscetíveis e sob condições ambientais favoráveis à sua ocorrência. A doença é mais severa quando ocorrem períodos prolongados de alta temperatura e de alta umidade, principalmente durante o período de formação de grãos. *Colletotrichum graminicola* é um organismo de alta variabilidade como já demonstrado em vários trabalhos já conduzidos no Brasil e em outros países onde a doença ocorre com severidade. Esta variabilidade impõe restrições ao uso de cultivares resistentes para o controle da doença, pela facilidade com que o patógeno pode se adaptar à resistência no hospedeiro.

Várias alternativas têm sido buscadas para aumentar a durabilidade da resistência de sorgo a *C. graminicola*; O uso de cultivares com resistência dilatária, caracterizada pela capacidade do genótipo de limitar o progresso da doença é uma alternativa que tem permitido um controle adequado da doença. Associada à resistência dilatária, tem sido utilizada a estratégia de se selecionar no germoplasma de sorgo combinações de linhagens para as quais a virulência não se encontra associada na população do patógeno. Esta metodologia permite indicar cruzamentos potencialmente úteis na formação de híbridos com resistência potencialmente durável a *C. graminicola*. A medição da diversidade em populações de patógenos é essencial para o entendimento da dinâmica de alterações nos padrões de virulência deste patógeno, na medida em que estas alterações influenciam a durabilidade da resistência. A caracterização da diversidade de populações através da virulência tem sido realizada através da determinação do número absoluto de raças em uma determinada amostra, da medição da uniformidade da distribuição das raças na referida amostra, das diferenças no grau de virulência entre raças do patógeno e de alterações no tempo e no espaço em quaisquer dos atributos acima. Diferentes índices têm sido utilizados para a caracterização da diversidade existente em populações de patógenos. Tais índices têm a vantagem de incorporarem de maneira eficiente a maior parte dos dados obtidos de trabalhos de identificação de raças através de cultivares diferenciadoras.

O índice de diversidade de Shannon apresenta a vantagem de estar linearmente relacionado ao número de cultivares diferenciadoras, quando todas as virulências detectadas são polimórficas na população e estão na mesma frequência. Desta forma cultivares de uma série diferencial podem ser analisadas separadamente quanto à sua capacidade de gerar informações sobre a diversidade fenotípica de uma população. Considera-se que duas características da virulência podem ser determinantes na perda de eficiência de uma série diferencial em detectar diversidade: 1-o grau de polimorfismo da virulência e 2- a associação de genes de virulência no patógeno. O máximo de informações sobre a diversidade é obtido quando se tem 50% dos isolados de uma amostra com virulência a cada genótipo da série diferencial e quando os genes de virulência no patógeno são independentes entre si. Não havendo nenhuma influência de epistasia, alelismo ou desequilíbrio de ligação.

O presente trabalho teve por objetivo analisar a variabilidade e a estrutura de virulência de três populações de *C. graminicola*, caracterizar a diversidade fenotípica destas populações e avaliar o impacto da associação de genes de virulência no patógeno sobre esta diversidade.

Para a obtenção dos isolados de *C. graminicola* foi estabelecida uma mistura, em partes iguais, formada por dez linhagens elites do programa de melhoramento de sorgo, a qual foi semeada em áreas de 1000m² nas localidades de Sete Lagoas (MG), Pelotas (RS) e Jataí (GO) no ano de 1995/96. Esta população foi formada pelos genótipos BR008, BR005, CMSXS136, BR009, SC112-14, BR501, Tx398, Tx2536, BR503 e SC748-5. Para a coleta de material as áreas foram subdivididas em parcelas de 100m² de onde foram coletadas, ao acaso, 5 a 6 plantas com sintomas da doença. De cada planta coletada foi obtido um isolado monospórico. Estes isolados foram testados em uma série diferencial formada pelas mesmas linhagens elites componentes da mistura, utilizada para a amostragem. As plantas da série diferencial foram inoculadas aos 28 dias após o plantio utilizando-se uma concentração de inóculo de 10⁶ conídios/ml. Após inoculadas as plantas foram deixadas em câmara úmida por 18 horas, sendo em seguida deixadas nas condições ambientais da casa de vegetação até a época de avaliação a uma temperatura de 25 a 30⁰C. As avaliações foram realizadas aos 12 dias após a inoculação com uma escala de notas com valores de 1 a 5, com base no tipo de infecção. As notas 1, 2 e 3 foram consideradas como de reação de resistência e 4 e 5 como de suscetibilidade.

As três populações foram analisadas quanto a presença de associações de virulência em relação a duas linhagens quaisquer a e b da série diferencial. Os isolados foram separados em cada uma das quatro categorias possíveis de virulência ou de avirulência: VaVb - isolado virulento às duas linhagens, VaAb - isolado virulento à linhagem a e avirulento à linhagem b, AaVb - isolado avirulento à linhagem a e virulento à linhagem b e AaAb - isolado avirulento a ambas as linhagens. Para a análise calculou-se a frequência de virulência a cada genótipo individualmente. Estes dados foram utilizados para se calcular a frequência esperada de isolados com virulência a cada par de genótipo da série diferencial, nas quatro categorias acima identificadas. Associações de virulência são consideradas positivas quando o número observado de isolados excede o número esperado, se a associação ocorre apenas por acaso.

A diversidade fenotípica das três populações foi caracterizada através do índice de diversidade fenotípica de Shannon, tendo sido avaliada a contribuição de cada genótipo da série diferencial na obtenção de informações sobre a diversidade das populações e o efeito da associação de genes de virulência em *C. graminicola* sobre esta diversidade. Para isto foram feitas as seguintes determinações:

1.) Índice de diversidade de Shannon (Dr)

$Dr = \sum p_i \ln(p_i)$, onde

p_i = frequência de determinado fenótipo ou raça na amostra,

2.) Acréscimo (ΔD) no índice de Shannon, pela inclusão de determinado genótipo da série diferencial na análise

$-\Delta D = [(0,5 + d_i)\ln(0,5+d_i) + (0,5-d_i)\ln(0,5-d_i)]$, onde:

d_i = desvios em relação à frequência de virulência de 0,5 ao genótipo da série diferencial incluído na análise,

3.) Índice máximo de diversidade possível (Dmax), considerando-se como zero, o desvio em relação à frequência ideal de 0,5

$-\Delta D = -\ln(0,5) = -0,693$

$D_{max} = Dr + 0,693$ onde:

D_r = diversidade fenotípica anterior à inclusão do genótipo da série diferencial na análise,

4.) Perdas no índice de diversidade de Shannon (a) por desvios em relação à frequência ideal de virulência de 0,5

$$a = 0,693 - \Delta D,$$

5.) Índice de diversidade de Shannon (D_f) considerando-se as perdas por desvios em relação à frequência ideal de 0,5

$$D_f = D_{\max} - a$$

6.) Perdas no índice de diversidade de Shannon (b) pela associação de genes de virulência no patógeno

$$b = D_f - D_r.$$

Foi observada uma associação negativa de virulência em Sete Lagoas e em Jataí em relação aos genótipos BR008 e BR005 (Tabela 1). Associações negativas de virulência não têm sido observadas em análises da estrutura de virulência de populações de *C. graminicola* analisadas anteriormente. A associação negativa observada em relação aos genótipos BR008 e BR005, parece ser, entretanto, consistente, uma vez que em levantamentos de raças de *C. graminicola* realizados em anos anteriores, tem sido baixa a frequência de isolados com virulência associada a estes genótipos. Também trabalhos sobre a capacidade competitiva de raças de *C. graminicola* em mistura, têm demonstrado que raças com esta combinação de virulência são menos competitivas do que aquelas com virulência a cada genótipo individualmente. Combinações entre estas linhagens ou seus derivativos podem gerar híbridos de sorgo com resistência de maior durabilidade a *C. graminicola*.

Maioras perdas na obtenção de informações sobre a diversidade fenotípica de *C. graminicola*, foram determinadas por desvios no grau de polimorfismo em relação à frequência ideal de 0,5 de virulência a determinada cultivar da série diferencial. Entretanto, se consideradas em conjunto as perdas por associações de genes de virulência em *C. graminicola* foram consideráveis nas três localidades analisadas, tendo sido de 28,3% em Sete Lagoas, 24,8% em Pelotas e 23,9% em Jataí. Estes resultados estão de acordo com observações anteriores da presença de associação positiva de virulência na população deste patógeno. Esta associação pode estar sendo determinada pela predominância de reprodução assexuada e a consequente ausência de recombinação genética em *C. graminicola*. Para outros patógenos entretanto, o efeito da associação de genes de virulência em patógenos de reprodução assexuada tem sido maior. No caso de *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*, por exemplo, em populações de reprodução assexuada do patógeno uma maior porcentagem da diversidade máxima (39%) não foi atingida devido à associação de genes de virulência no patógeno.

A ocorrência de associação negativa de virulência em relação aos genótipos BR008 e BR005, chama a atenção para a possibilidade de existência desta característica em relação a outras combinações de genótipos. Trabalhos com outros genótipos de sorgo deverão ser realizados na medida em que associações negativas de virulência representam a possibilidade de utilização de genes de resistência vertical ainda que os mesmos já tenham sofrido adaptação por parte do patógeno. Existem limitações quanto a utilização da análise da diversidade através do índice de Shannon, pelo fato de não se poder trabalhar com linhagens isogênicas de sorgo. Apesar desta limitação, entretanto, foi possível, a obtenção de informações mais detalhadas a respeito da diversidade de *C. graminicola* e da extensão da associação de genes de virulência no patógeno e de como esta influencia a diversidade genética no patógeno.

Tabela 1 Número esperado e observado de isolados de *Colletotrichum graminicola* nas quatro categorias de virulência e de avirulência às cultivares BR008 e BR005 em Sete Lagoas (MG) e Jataí (GO).

Local	Cultivar	Virulência/Avirulência			
		V	V	A	A
	BR008				
	BR005	V	A	V	A
Sete Lagoas	Observado	0,0	12,0	5,0	29,0
	Esperado	23,7	2,9	17,2	2,1
	$\chi^2 = 376,84^1$				
	BR008	V	V	A	A
Jataí	BR005	V	A	V	A
	Observado	2,0	23,0	9,0	12,0
	Esperado	14,0	16,0	3,2	12,7
	$\chi^2 = 85,6^1$				

1 Associação negativa para virulência (P<0,01)