

# ASSOCIAÇÕES DE PATOGENICIDADE E DIVERSIDADE FENOTÍPICA DE *Colletotrichum graminicola*, AGENTE CAUSAL DA ANTRACNOSE EM SORGO

CARLOS R. CASELA, FREDOLINO G. SANTOS & ALEXANDRE S. FERREIRA

Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Caixa Postal 151, CEP 35701-970, Sete Lagoas, MG, fax: (031) 779-1088, e-mail: casela@cnpms.embrapa.br

(Aceito para publicação em 02/03/2000)

Autor para correspondência: Carlos R. Casela

CASELA, C. R., SANTOS, F. G. & FERREIRA, A. S. Associações de patogenicidade e diversidade fenotípica de *Colletotrichum graminicola*, agente causal da antracnose em sorgo. Fitopatologia Brasileira 25:517-521. 2000.

## RESUMO

Foi analisada a diversidade populacional de *Colletotrichum graminicola*, agente causal da antracnose do sorgo (*Sorghum bicolor*), através da virulência em plantas de uma série diferencial formada por dez linhagens elites de sorgo. Isolados foram obtidos de quatro áreas de ocorrência de severas epidemias de antracnose em Sete Lagoas e Capinópolis (MG), Cravinhos (SP) e Pelotas (RS). Determinou-se, para cada local, a diversidade populacional através do índice de Shannon e a contribuição da associação de genes de virulência no patógeno na perda de informações sobre a diversidade destas populações. As populações foram também analisadas através de um coeficiente de associação de patogenicidade e de um coeficiente de associação de virulência, para identificar combinações de genótipos capazes

de funcionar como fontes de resistência durável a *C. graminicola*. Foram observadas diferenças quanto à diversidade entre as populações analisadas. A maior proporção de perdas no índice de Shannon foi determinada pela associação de fatores de virulência no patógeno. Foram identificados 13 pares de linhagens formados entre linhagens macho-estéreis e restauradoras (A x R), e 15 combinações triplas, entre linhagens macho-estéreis e mantenedoras e uma restauradora [(A x B) x R], para as quais a virulência não se encontrava associada na população de *C. graminicola* sendo consideradas possíveis fontes de resistência durável a esse patógeno.

**Palavras-chave:** *Sorghum bicolor*, resistência genética, virulência.

## ABSTRACT

### Pathogenicity and phenotypic diversity associations of *Colletotrichum graminicola*, causal agent of sorghum anthracnose

The phenotypic diversity of the sorghum (*Sorghum bicolor*) anthracnose fungus *Colletotrichum graminicola*, was analyzed through virulence on a set of 10 differential sorghum elite lines. Isolates of the fungus were obtained from areas of severe anthracnose epidemics in Sete Lagoas and Capinópolis (MG), Cravinhos (SP), and Pelotas (RS). Populations were compared through the Shannon index and the contribution of virulence association in the pathogen population to losses in

phenotypic diversity was determined. Populations were also compared through pathogenicity and virulence association coefficients. Virulence associations in the pathogen population significantly reduced the Shannon diversity index in all populations analyzed. Thirteen double and fifteen triple combinations of sorghum genotypes to which virulence was not associated, were identified in the pathogen populations. These are potential sources for durable resistance to this pathogen.

## INTRODUÇÃO

*Colletotrichum graminicola* (Ces.) G. W. Wills. (Syn. *C. sublineola* Henn. in Kab. & Bubak.), agente causal da antracnose do sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench], é considerado um dos mais importantes patógenos da cultura do sorgo no Brasil. Esse fungo é reconhecido pela sua alta capacidade adaptativa à resistência genética de cultivares de sorgo, pela rápida produção de novas raças. A doença está presente em todas as áreas de plantio de sorgo no Brasil podendo causar severas perdas à produção de cultivares

suscetíveis, principalmente, sob condições de umidade e temperatura elevadas. Perdas severas são também relatadas em áreas de plantio de sorgo de outros países, sob ampla faixa de condições ambientais, o que sugere a existência de diferentes ecotipos do patógeno (Frederiksen *et al.*, 1995). O organismo produz escleródios os quais são encontrados no colmo de plantas infetadas ao final de ciclo. Essas estruturas são, aparentemente, importantes para a sobrevivência do fungo em muitas áreas de ocorrência da doença no mundo (Casela & Frederiksen, 1993). Cardwell *et al.* (1989) observaram que isolados provenientes da espécie *Sorghum halepense* L. Pers.



apresentaram-se avirulentos a cultivares de sorgo geneticamente resistentes a *C. graminicola*, o que sugere a ação da seleção estabilizadora sobre isolados atacando espécies selvagens do mesmo gênero.

Raças de *C. graminicola* têm sido identificadas, em grande parte, com base na reação de plantas diferenciadoras (Cardwell *et al.*, 1989; Ali & Warren, 1989; Pande *et al.*, 1991). No Brasil, inúmeras raças foram identificadas com base na reação de plantas diferenciadoras, muitas das quais incluindo novas combinações de virulência desenvolvidas em resposta à resistência genética de cultivares de sorgo.

A variabilidade de *C. graminicola* tem determinado a busca de alternativas para o manejo da resistência genética a este patógeno no Brasil. A identificação de genótipos de sorgo, para os quais a virulência não esteja associada na população tem sido útil aos programas de melhoramento pelo fornecimento de informações sobre possíveis combinações de genótipos potencialmente efetivas para o desenvolvimento de novas cultivares com resistência durável ao patógeno (Casela *et al.*, 1998).

Os objetivos deste trabalho foram obter informações sobre a diversidade fenotípica desenvolvida na população de *C. graminicola* em resposta a uma mistura de genótipos de sorgo em áreas de ocorrência de antracnose no Brasil e identificar combinações de genes ou de genótipos potencialmente capazes de dar origem a uma resistência de alta durabilidade ao patógeno.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os isolados de *C. graminicola* foram obtidos de amostragens realizadas nos anos de 1996 em Sete Lagoas (MG) e de 1997 em Sete Lagoas (MG), Capinópolis (MG), Cravinhos (SP) e Pelotas (RS). Em Sete Lagoas e Pelotas as amostragens foram realizadas em uma população hospedeira formada por uma mistura, em partes iguais, de linhagens elites do programa de melhoramento da Embrapa Milho e Sorgo semeadas em áreas de, aproximadamente, 1.000 m<sup>2</sup>. Nos outros locais, as amostragens foram feitas ao acaso de parcelas experimentais.

A população hospedeira semeada em Sete Lagoas e Pelotas foi constituída pelas linhagens macho-estéreis (A) ou suas correspondentes mantenedoras (B) BR008, CMSXS197, CMSXS218, CMSXS219, CMSXS220 e pelas linhagens restauradoras (R) BR005, CMSXS178, CMSXS184, CMSXS185 e CMSXS186.

Para a obtenção dos isolados, as áreas foram subdivididas em segmentos de 100 m<sup>2</sup>, de onde foram coletadas, ao acaso, folhas infetadas de cinco plantas. As amostras coletadas foram armazenadas em envelopes até a época de isolamento. Após uma desinfestação superficial, por 2 min em solução de hipoclorito de sódio a 0,5 %, os espécimens foram colocados em placas de Petri em meio de farinha de aveia – ágar (FAA). As placas foram, em seguida, incubadas sob luz fluorescente contínua a uma temperatura de 25 °C durante sete dias, para a indução de esporulação.

A coleta de conídios foi realizada adicionando-se, inicialmente, 10 ml de água destilada em cada placa, seguindo-se uma raspagem superficial com o auxílio de uma espátula. A suspensão obtida foi diluída até a concentração de 100 esporos/ml e transferida para placas de Petri contendo ágar- água (AA) a 2 %, na proporção de 1 ml/placa. Estas placas foram incubadas por 12 h, nas condições anteriormente descritas, para a indução de germinação. Em seguida, foram obtidos os isolados monospóricos na proporção de 50 isolados por local.

Para a caracterização do padrão de virulência de cada isolado, utilizou-se uma série diferencial formada pelas 10 linhagens elite mencionadas anteriormente como componentes da mistura de genótipos. As inoculações foram realizadas, em casa de vegetação, em plantas de sorgo aos 28 dias após o plantio, utilizando-se um pulverizador manual Uni – Spray Mod. 2000. Foram pulverizados cerca de 10 ml de suspensão de esporos por vaso com cinco plantas, na concentração de 10<sup>6</sup> conídios/ml. Após a inoculação, as plantas foram mantidas em câmara úmida por um período de 18 h, sendo em seguida deixadas nas condições ambientais da casa de vegetação onde permaneceram até a época de avaliação a uma temperatura de 25 - 30 °C. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso com parcelas subdivididas em três repetições, constituindo os isolados as parcelas e as cultivares as subparcelas. Cada vaso com cinco plantas foi considerado uma subparcela.

As avaliações foram realizadas aos 12 dias após a inoculação, utilizando-se a escala de notas proposta por Cardwell *et al.* (1989) com valores de 1 a 5, sendo: 1- presença de pequenas pontuações necróticas; 2- presença de pequenas manchas avermelhadas sem a produção de acérvulos; 3- lesões necróticas sem produção acérvulos; 4- lesões necróticas com produção de acérvulos no centro; e 5- lesões necróticas coalescidas e com abundante produção de acérvulos.

Foram consideradas duas classes de reação: resistente (incluindo as notas 1, 2 e 3) e suscetível (incluindo as notas 4 e 5).

As associações de patogenicidade foram analisadas conforme Browder & Eversmeyer (1977). De acordo com os citados autores a patogenicidade de um determinado isolado a qualquer par de linhagens a e b pode ser classificada como: VaVb (virulento a a e b), VaAb (virulento a a e avirulento a b), AaVb (avirulento a a e virulento a b) e AaAb (avirulento a a e b). Para se detectar possíveis combinações de genótipos de sorgo, para as quais a virulência não estava associada na população do patógeno, calculou-se, para cada combinação duas a duas e para cada combinação três a três de genótipos, considerando-se a inclusão de uma terceira cultivar z, um coeficiente de associação de patogenicidade (CAP) e um coeficiente de associação de virulência (CAV) como segue:  

$$CAP = \frac{N^a \text{ de isolados AaAb (Ac)} + N^a \text{ de isolados VaVb (Vc)}}{N^a \text{ total de isolados na amostra}}$$

$$CAV = \frac{N^a \text{ de isolados VaVb (Vc)}}{N^a \text{ total de isolados na amostra}}$$

Altos valores de CAP e baixos valores de CAV são



indicativos de que a maioria dos isolados na população não possui virulência associada à combinação de linhagens considerada para análise. O cruzamento entre genótipos com esta característica, seja para a formação de híbridos ou para a geração de novas linhagens, poderá resultar em genótipos com resistência de alta durabilidade a *C. graminicola*.

A diversidade fenotípica das diferentes populações analisadas foi comparada através do índice de diversidade de Shannon, o qual está linearmente relacionado ao número de cultivares diferenciadoras utilizadas (Groth & Roelfs, 1987). Este índice é calculado pela fórmula

$$D_r = \sum p_i \log e (p_i)$$

onde:  $D_r$  = índice de Shannon;  $p_i$  = frequência de determinado fenótipo ou raça na amostra.

Determinou-se também a influência da frequência de virulência e da associação de fatores de virulência em *C. graminicola* na eficiência do índice de Shannon em detectar a diversidade nas populações analisadas. Para tanto foram calculados os efeitos dos desvios do grau de polimorfismo ( $P_d$ ), em relação à frequência ideal de 0,5 de virulência a um determinado genótipo da série diferencial, e os efeitos da associação de fatores de virulência no patógeno ( $P_a$ ) na diversidade fenotípica das populações analisadas, conforme Groth & Roelfs (1987).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram identificadas 13 combinações formadas entre linhagens (A) e (R), com altos valores de CAP e baixos valores de CAV as quais envolveram sempre as linhagens CMSXS197A e CMSXS219A (Tabela 1). Altos CAP e baixos CAV foram também identificadas em 15 combinações triplas formadas pela associação entre duas linhagens A e B, de genótipos diferentes, e uma linhagem R. Nessas últimas combinações estiveram também presentes pelo menos uma das linhagens acima mencionadas (Tabela 2).

Uma alta diversidade para virulência foi observada nas populações analisadas conforme indicado pelos altos valores obtidos para o índice de diversidade de Shannon para estas populações. Um maior número de raças de *C. graminicola* foi identificado na população amostrada em 1997 em Sete Lagoas, o que correspondeu a um valor de 3,386 para o índice de Shannon (Tabela 3). A maior proporção de perdas no índice de diversidade de Shannon foi determinada pela associação de genes de virulência no patógeno. Estas perdas variaram de 1,882 em Sete Lagoas a 2,458 em Pelotas em 1997, o que correspondeu a 27 e a 35 % do valor máximo possível do índice de diversidade de Shannon (Tabela 3).

A obtenção de cultivares geneticamente resistentes a doenças é, muitas vezes, dificultada quando se trabalha com patógeno de alta variabilidade, seja pela presença de raças já existentes em um determinado local, seja pelo desenvolvimento de novas raças que apresentam alguma vantagem seletiva, determinada pela sua virulência a um

genótipo anteriormente resistente (Leonard, 1987; Gale, 1987). A alta variabilidade apresentada por *C. graminicola*, e confirmada pelos índices de diversidade obtidos no presente trabalho, tem representado uma dificuldade para os programas de melhoramento para resistência a esse patógeno. Apesar dessa dificuldade, é possível a identificação de resistência estável desde que sejam utilizadas técnicas adequadas de avaliação e de seleção (Pande *et al.*, 1994).

Os índices de diversidade detectados neste trabalho, confirmam resultados de anos anteriores a respeito da alta variabilidade de *C. graminicola* determinada pela virulência em plantas diferenciadoras (Casela *et al.*, 1998). Neste trabalho, maiores perdas no índice de Shannon foram determinadas pela associação de fatores de virulência no patógeno do que por desvios no grau de polimorfismo. Sendo *C. graminicola* um patógeno de reprodução assexuada a ausência de recombinação genética está provavelmente influenciando nesta associação. Estes resultados concordam com informações obtidas por Groth & Roelfs (1987) em análises realizadas em populações de reprodução assexuada de *Puccinia graminis* Pers. f. sp. *tritici* Erick. & Henn. A alta variabilidade para a virulência encontrada em populações de *C. graminicola* é, entretanto, contrastante com a baixa diversidade detectada por Rosewich *et al.* (1998) através de marcadores do tipo RFLP. Estes resultados sugerem ser as populações deste patógeno formadas por um número não muito grande de clones, mas com uma alta variabilidade em virulência, conforme já discutido por Casela & Frederiksen (1994). É necessária a aplicação de marcadores moleculares em estudos sobre a diversidade populacional de *C. graminicola* no Brasil para se confirmar esta hipótese.

O grande número de raças identificadas nos locais amostrados é indicativo de que estas áreas podem ser de grande utilidade para a avaliação da estabilidade da resistência de genótipos de sorgo a *C. graminicola* e a seleção de combinações de genes ou de genótipos com resistência a raças de alta virulência porém ainda de baixa frequência na população. Resultados semelhantes foram obtidos por Leonard *et al.* (1992) em populações de *P. graminis* f. sp. *tritici* amostradas em oito áreas de plantio de trigo nos Estados Unidos da América

A identificação de combinações triplas com baixos coeficientes de associação de virulência na população sugere ser possível a construção de combinações altamente efetivas de resistência, de forma aditiva, até a exclusão de toda a virulência existente na população do patógeno. As linhagens CMSXS197A e CMSXS219A, quando consideradas em associação às linhagens BR005R, CMSXS178R, CMSXS184R, CMSXS185R e CMSXS186R, resultam em coeficientes de associação de virulência iguais a zero.

Este fato abre novas perspectivas em termos de melhoramento para resistência a *C. graminicola* em sorgo. Uma possibilidade, por exemplo, é a obtenção de híbridos triplas através do cruzamento entre um híbrido simples, formado por linhagens A e B diferentes e uma linhagem R. O híbrido triplo funcionaria, nesse caso, como uma mistura



**TABELA 1 - Coeficientes de associação de patogenicidade (CAP) e de virulência (CAV) de *Colletotrichum graminicola* a 13 combinações entre linhagens A e B e entre linhagens A e R de sorgo (*Sorghum bicolor*), estimados em cinco populações do patógeno amostradas em Sete Lagoas (MG), Capinópolis (MG), Cravinhos (SP) e Pelotas (RS).**

Combinação de Linhagens de Sorgo*	S. Lagoas**		S. Lagoas***		Capinópolis		Cravinhos <sup>3</sup>		Pelotas <sup>3</sup>	
	CAP	CAV	CAP	CAV	CAP	CAV	CAP	CAV	CAP	CAV
2 x 3	0,674	0,021	0,612	0,021	0,800	0,000	0,47	0,042	0,583	0,002
4 x 3	0,761	0,021	0,612	0,021	0,767	0,033	0,489	0,067	0,542	0,002
2 x 4	0,870	0,021	0,918	0,000	0,900	0,000	0,844	0,021	0,875	0,000
2 x 5	0,565	0,087	0,419	0,021	0,367	0,000	0,200	0,089	0,583	0,042
2 x 6	0,696	0,021	0,633	0,021	0,800	0,000	0,822	0,000	0,625	0,020
2 x 7	0,565	0,000	0,531	0,041	0,700	0,000	0,533	0,067	0,500	0,042
2 x 8	0,761	0,043	0,694	0,000	0,933	0,000	0,711	0,044	0,542	0,000
2 x 9	0,565	0,021	0,766	0,000	0,833	0,000	0,778	0,067	0,625	0,021
4 x 5	0,565	0,021	0,490	0,021	0,467	0,100	0,221	0,111	0,583	0,064
4 x 6	0,783	0,021	0,632	0,021	0,767	0,033	0,800	0,000	0,583	0,021
4 x 7	0,696	0,021	0,490	0,021	0,733	0,067	0,556	0,089	0,458	0,042
4 x 8	0,840	0,021	0,694	0,000	0,833	0,000	0,644	0,022	0,625	0,042
4 x 9	0,609	0,000	0,776	0,000	0,867	0,000	0,667	0,022	0,688	0,063

\* 2 = CMSXS197A; 3 = BR005R; 4 = CMSXS219A; 5 = CMSXS220A; 6 = CMSXS178R; 7 = CMSXS184R; 8 = CMSXS185R; 9 = CMSXS186R

\*\* isolados obtidos em 1996

\*\*\* isolados obtidos em 1997.

**TABELA 2 - Coeficientes de associação de patogenicidade (CAP) e de virulência (CAV) de *Colletotrichum graminicola* a 15 combinações triplas entre linhagens A e linhagens R de sorgo (*Sorghum bicolor*), estimados em cinco populações do patógeno amostradas em Sete Lagoas (MG), Capinópolis (MG), Cravinhos (SP) e Pelotas (RS).**

Combinação de Linhagens de Sorgo*	S. Lagoas**		S. Lagoas***		Capinópolis <sup>3</sup>		Cravinhos <sup>3</sup>		Pelotas <sup>3</sup>	
	CAP	CAV	CAP	CAV	CAP	CAV	CAP	CAV	CAP	CAV
3 X 5 X 2	0,739	0,000	0,610	0,000	0,800	0,000	0,444	0,000	0,583	0,000
3 X 5 X 7	0,761	0,000	0,630	0,000	0,800	0,000	0,889	0,000	0,625	0,000
3 X 5 X 8	0,764	0,000	0,489	0,000	0,700	0,000	0,511	0,022	0,458	0,000
3 X 5 X 9	0,804	0,000	0,735	0,000	0,930	0,000	0,733	0,022	0,583	0,000
3 X 5 X 10	0,650	0,000	0,816	0,000	0,830	0,000	0,756	0,022	0,646	0,000
3 X 6 X 7	0,696	0,000	0,633	0,000	0,800	0,000	0,822	0,000	0,625	0,021
3 X 6 X 9	0,761	0,000	0,714	0,000	0,930	0,000	0,667	0,022	0,542	0,000
3 X 4 X 9	0,783	0,042	0,694	0,000	0,930	0,000	0,711	0,000	0,542	0,000
1 X 3 X 9	0,761	0,000	0,694	0,000	0,930	0,000	0,689	0,022	0,542	0,000
1 X 3 X 7	0,696	0,022	0,612	0,000	0,800	0,000	0,844	0,000	0,625	0,021
3 X 4 X 8	0,630	0,000	0,531	0,041	0,700	0,000	0,444	0,000	0,500	0,041
3 X 6 X 2	0,674	0,000	0,633	0,021	0,800	0,000	0,482	0,021	0,583	0,000
3 X 6 X 8	0,609	0,000	0,510	0,000	0,700	0,000	0,489	0,042	0,500	0,042
3 X 6 X 10	0,565	0,000	0,796	0,000	0,830	0,000	0,733	0,042	0,646	0,021
4 X 5 X 9	0,804	0,000	0,735	0,000	0,867	0,000	0,689	0,022	0,646	0,042

\* 2 = BR005R; 3 = CMSXS197A; 4 = CMSXS218A; 5 = CMSXS219A; 6 = CMSXS220A; 7 = CMSXS178R; 8 = CMSXS184R; 9 = CMSXS185R; 10 = CMSXS186R.

\*\* isolados de 1996

\*\*\* isolados de 1997.

varietal do ponto de vista de segregação de genes para resistência. Outra possibilidade é a obtenção de duas linhagens A e B isogênicas, porém com genes de resistência diferentes. A geração F1, resultante do cruzamento entre essas linhagens seria geneticamente semelhante aos parentais e o híbrido triplo funcionaria, nesse caso, como uma multilinha,

já que haveria segregação apenas para os genes de resistência a *C. graminicola*. Essa estratégia vem sendo utilizada com sucesso no controle do míldio causado por *Sclerospora graminicola* Sacc. Schroet em milho *Penisetum glaucum* L. (Hash et al., 1997). Trabalhos sobre a capacidade competitiva de raças de *C. graminicola* e sua relação com a



**TABELA 3 - Valores de componentes de diversidade para virulência de cinco populações de *Colletotrichum graminicola* amostradas em Sete Lagoas (MG), Capinópolis (MG), Cravinhos (SP) e Pelotas (RS).**

Local	Índice de Diversidade de Shannon <sup>1</sup>			Nº de Raças Observadas
	Dr	Pd	Pa	
Sete Lagoas <sup>2</sup>	3,100	1,980	1,882	31
Sete Lagoas <sup>3</sup>	3,386	1,508	1,783	38
Capinópolis	2,629	1,459	2,050	20
Cravinhos	3,290	1,667	1,961	30
Pelotas	3,252	1,220	2,458	33

1) Dr = diversidade observada; Pd = perdas devidas a desvios na frequência ideal de 0,5; Pa = perdas devidas à associação de fatores de virulência no patógeno.

2) amostragem de 1996

3) amostragem de 1997.

virulência desnecessária, bem como sobre a genética de resistência no hospedeiro e de virulência no patógeno estão sendo conduzidos de modo a possibilitar a utilização dessas estratégias de manejo da resistência genética a este patógeno de forma mais eficiente

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALI, M.E.K. & WARREN, H.L. Physiological races of *Colletotrichum graminicola* on sorghum. *Plant Disease* 71:402-404. 1987.
- BROWDER, L.E. & EVERSMEYER, M.G. Pathogenicity associations in *Puccinia graminis tritici*. *Phytopathology* 67:766-771. 1977.
- CARDWELL, K.F., HEPPERLY, P.R. & FREDERIKSEN, R.A. Pathotypes of *Colletotrichum graminicola* and seed transmission of sorghum anthracnose. *Plant Disease* 73:255-257. 1989.
- CASELA, C.R. & FREDERIKSEN, R.A. Survival of *Colletotrichum graminicola* in sclerotia of sorghum stalk residues. *Plant Disease* 77:825-827. 1993.
- CASELA, C.R. & FREDERIKSEN, R.A. Pathogenic variation in monoconidial isolates of the sorghum anthracnose fungus *Colletotrichum graminicola* from single lesions and from monoconidial cultures. *Fitopatologia Brasileira* 19:149-153. 1994.
- CASELA, C.R., FERREIRA, A.S. & SANTOS, F.G. Associação de virulência de *Colletotrichum graminicola* à resistência genética em sorgo. *Fitopatologia Brasileira* 23:143-146. 1998.
- FREDERIKSEN, R.A., THOMAS, M.D., BANDYOPADHYAY, R., & MUGHOGHO, L.K. Variable pathogens of sorghum. In: Leslie, J.F. & Frederiksen, R.A., (eds.) *Disease Analysis through Genetics and Biotechnology. Interdisciplinary Bridges to Improved Sorghum and Millet Crops.* Iowa State University Press. Ames. 1995. pp 11-23.
- GROTH, J.P. & ROELFS, A.P. The concept and measurement of phenotypic diversity in *Puccinia graminis* on wheat. *Phytopathology* 77:1395-1399. 1987.
- GALE, J.S. Factors delaying the spread of a virulent mutant of a fungal pathogen: some suggestions from population dynamics. In: Wolfe, M.S. & Caten, C.E., (Eds.), *Populations of Plant Pathogens: Their Dynamics and Genetics.* Blackwell Scientific Publications. Oxford. 1987. pp 55-62.
- HASH, C.T., WITCOMBE, J.R., THAKUR, R.P., BHATNAGAR, S.K., SINGH, S.D. & WILSON, J.P. Breeding for pearl millet disease resistance. *Proceedings, International Conference on Genetic Improvement of Sorghum and Pearl Millet.* 1996. Lubbock, Texas. INTSORMIL/ICRISAT. 1997. pp. 337-372.
- LEONARD, K.J. The host population as a selective factor. In: Wolfe, M.S. & Caten, C.E., (Eds.) *Populations of Plant Pathogens: Their Dynamics and Genetics.* Blackwell Scientific Publications. Oxford. 1987. pp 131-163.
- LEONARD, K.J., ROELFS, A.P. & LONG, D.L. Diversity of virulence within and among populations of *Puccinia graminis* f.sp. *tritici* in different areas of the United States. *Plant Disease* 76:500-504. 1992.
- PANDE, S., MUGHOGHO, L.K., BANDYOPADHYAY, R. & KARUNAKAR, R.I. Variation in pathogenicity and cultural characteristics of sorghum isolates of *Colletotrichum graminicola* in India. *Plant Disease* 75:778-783. 1991.
- PANDE, R.P., THAKUR, R.P., KARUNAKAR, R.I., BANDYOPADHYAY, R. & REDDY, B.V.S. Development of screening methods and identification of stable resistance to anthracnose in sorghum. *Field Crop Research* 38:157-166. 1994.
- ROSEWICH, U.L., PETTWAY, R.E., McDONALD, B.A., DUNCAN, R.R. & FREDERIKSEN, R.A. Genetic structure and temporal dynamics of a *Colletotrichum graminicola* population in a sorghum disease nursery. *Phytopathology* 88:1087-1093. 1998.

99077

