

## **Primeiro relato de *Bipolaris sorghicola*, agente etiológico da “mancha alvo” em sorgo, no Brasil**

<sup>1</sup>SILVA, D.D; <sup>2</sup>CASELA, C.R; FERREIRA, A.S; SILVA, V. A; MARTINS, Z. C; BORGES, M.H.D; CASTRO, H.A e GUIMARÃES, F.B

<sup>1</sup>Universidade Federal de Lavras, cep 73200-000, Lavras, MG, e-mail: [ddionisia@yahoo.com.br](mailto:ddionisia@yahoo.com.br)

<sup>2</sup>Embrapa Milho e Sorgo, cep 35701-970, Sete Lagoas, MG, e-mail: [casela@cnpms.embrapa.br](mailto:casela@cnpms.embrapa.br)

Palavras-chave: *Bipolaris sorghicola*, *Sorghum bicolor*

Relatos de uma doença desconhecida no Brasil, ocorrendo em sorgo, com alta severidade na região de Jardinópolis, SP, e em Sete Lagoas e Ipiacu, MG, caracterizada por lesões elípticas a alongadas de cor púrpura a avermelhada, típicas de “mancha alvo”, que tem *Bipolaris sorghicola* como agente etiológico, levaram a suposição da presença do patógeno no país. Com objetivo de confirmar a etiologia da doença e a presença de *Bipolaris sorghicola* no Brasil, experimentos foram conduzidos na Embrapa Milho e Sorgo, no período de março a dezembro de 2005.

O fungo ataca as plantas de sorgo em todos os estádios de desenvolvimento e a germinação dos conídios é favorecida por condições de alta umidade relativa. Doze horas após a inoculação começam a surgir os primeiros sintomas visíveis e, a partir do terceiro ou quarto dia, surgem lesões características da doença. Em condições de alta umidade, há produção de abundante esporulação sendo os esporos disseminados pelo vento e por respingos de chuva (Dalmacio, 1986).

O patógeno pode sobreviver através de micélio e esporos em restos culturais de sorgo ou como parasita em plantas invasoras e ainda em *Sorghum halepense*.

*Bipolaris sorghicola* (Lefebvre e Sherwin) Shoem, possui conidióforos que medem 229.7 x 5.3µm, são cilíndricos, de coloração marrom a cinza, multiseptados e apresentam bulbos na base, o que o diferencia de outros fungos do complexo Helminospórico do qual faz parte. Os conídios em tecidos doentes medem de 72.5-75 x 10-12.5µm e possuem de 3 a 7 septos, dependendo do substrato. Normalmente, os conídios originam-se em protusões da parede do conidióforo. A germinação freqüentemente ocorre nos dois pólos. Esta característica também é usada para diferenciar *Bipolaris* de *Exsherorilum* e *Dhreshlera*. O tubo germinativo pode tornar-se um conidióforo secundário e produzir conídios (Dalmacio, 1986).

### **Material e Métodos**

#### **Isolamento:**

Fragmentos de folhas com sintomas da doença, obtidos em lavoura de sorgo em Ipiacu, MG, foram cortados, desinfestados por 2 minutos em hipoclorito de sódio a 2% e em seguida transferidos para placas de Petri contendo meio BDA. As placas foram mantidas em câmara de crescimento a aproximadamente 25 °C por 7 dias. Três experimentos foram delineados com o objetivo de verificar a patogenicidade do fungo e a metodologia mais adequada de inoculação do patógeno em sorgo.

### **Inoculação em sementes**

Sementes de sorgo foram germinadas em BOD a 32 °C por dois dias em placas de Petri contendo abundante suspensão de conídios. Em seguida transplantadas para copinhos de polietileno (mantidos dentro de bandejas com capacidade para 15 copinhos), e para vasos de polietileno com capacidade para 5 litros. Vasos e copinhos com 3-4 plantas foram considerados uma parcela. Para cada parcela foram feitas três repetições. As plantas, em vasos, foram colocadas em câmara úmida por 48 horas em casa de vegetação, porém não foram observados sintomas da doença.

Os genótipos transplantados para copinhos foram incubados em câmara úmida por 48 horas a uma temperatura de 18 °C. Após esse período, observou-se lesões de tamanho discreto, porém não foi verificada esporulação. A bandeja foi retirada da câmara e levada para casa de vegetação onde permaneceu por mais quatro dias para observação da evolução dos sintomas. Não houve evolução no tamanho de lesões sob condições de casa de vegetação.

Os genótipos utilizados neste ensaio foram: BR005, BR009, BR008, SC283 e ATF8A.

### **Inoculação em plântulas de sorgo**

Sementes de sorgo pré-germinadas por dois dias em BOD à 32 °C foram transplantadas para copos plásticos com volume de 100mL e mantidos em condições de umidade em bandejas de polietileno por 7 dias. Três copos com 2-3 plântulas foi considerado uma repetição.

O inóculo foi preparado pela adição de água destilada sobre as placas seguida de raspagem micelial para liberação de conídios. A concentração de inóculo foi ajustada por contagem em hemacitômetro obtendo-se uma concentração de  $2,125 \times 10^3$  conídios/ml.

Plantas com sete dias de idade foram inoculadas com pulverizador manual até cobertura total das folhas e, em seguida, colocadas em câmara úmida a 18°C por 48 horas. Após esse período, a bandeja foi levada para casa de vegetação. Foram observadas pontuações avermelhadas dispersas por todo o limbo foliar. Quatro dias depois, em lesões de coloração avermelhada a púrpura, com centro de cor palha, observou-se abundante esporulação em todos os genótipos de sorgo testados. Estes sintomas também foram verificados no colmo. Observações em microscópio de luz confirmaram que os conídios eram de *Bipolaris sorghicola*.

O fungo foi reisolado e, dessa forma, completou-se todas as etapas dos postulados de Koch, confirmando a sua patogenicidade.

Os genótipos utilizados foram BR005, BR009, BR008, SC283, TX2536, BR501, BR503, SC112- 14 e TX 398.

### **Inoculação em plantas aos 15 dias após o plantio**

Sementes de sorgo, previamente germinadas em BOD a 32 °C por dois dias, foram transplantadas para copos de polietileno com volume de 500ml. Foram feitas 2 repetições para cada genótipo de sorgo e montados 2 experimentos em bandejas plásticas com capacidade para 15 copos. Após 15 dias foi realizada inoculação com suspensão de esporos na concentração de  $4,15 \times 10^3$  conídios/ml. Uma bandeja foi colocada sob câmara úmida e mantida à temperatura de 18 °C por 48 horas, e em seguida, levada para casa de vegetação onde permaneceu para observação dos sintomas.

A outra bandeja foi mantida em câmara úmida em condições de casa de vegetação por 18 horas. Neste ensaio utilizou-se os genótipos: BR005, BR009, BR008, SC283, TX2536, SC748-5, BR501, BR503, SC112-14; TX398 e ATF8A.

Todos os genótipos, inoculados com *Bipolaris sorghicola* apresentaram os sintomas com várias lesões típicas da doença e abundante esporulação. No entanto, os genótipos mantidos sob

condições normais da casa de vegetação (em que a temperatura foi elevada), apresentaram poucas lesões e a presença de pouca esporulação.

Este resultado indicou que o método de inoculação, em plantas aos 15 dias após o plantio, e, sob condições de umidade e temperaturas mais amenas, foi o mais adequado e indicado para estudos com *Bipolaris sorghicola*.

### Caracterização do patógeno

A identificação do patógeno foi realizada no Laboratório de Resistência a Doenças da EMBRAPA/ Milho e Sorgo, e no Laboratório de Micologia da UFLA baseando-se nas características morfológicas do fungo conforme Sivanesan (1987) e Ellis (1993).

#### Gênero

Conidiogenous cells blastic .....	11
11 Conidiophores acroauxic ....	12
12 Conidiogenous cells enteroblastic .....	174
174 Conidiogenous cells tretic.....	175
175 Conidiogenous cells politretic.....	184
184 Conidiogenous cells sympodial.....	188
188 Conidiophores mononematous.....	189
189 Conidiophores not nodose .....	190
190 Conidiophores not branched at the apex .....	191
191 Conidia with septa transverse septa or pseudosepta .....	193
193 Conidia pseudoseptate .....	194
194 Stroma present in few species, conida usually cylindrical or fusiform, rarely obclavate, common in Gramineae .....	<i>Drechslera</i>

#### Espécie

Conidiophores not formed in large, erect, black stromata on natural substrata .....	1
1 Conidia without a protuberant hilum .....	8
8 Conidia mostly more than 40m long .....	13
13 Coniophores very rarely branched .....	16
16 Conidia mostly curved .....	32
32 Conidia with hilum not protuding or papilate .....	33
33 Secondary conidiophores or conidia often formed .....	<i>sorghicola</i>

Fonte: Ellis, 1993.

1 Conidia smooth, with or without a protuberant hilum .....	2
2 Conidia withouth a protuberant hilum .....	4
4 Conidia usually more than 3 –distoseptate .....	8
8 Conidia often more than 6 –distosepatate .....	20
20 Conidia often more than 7 distoseptate .....	27
27 Conidia 5-9 distosepatate .....	28
28 Conidia often more than 11mn wide .....	30
30 Conidia straight to slighty curved .....	31

31	Conidia usually over 75 mn long .....	33
33	Conidia usually not over 100mn long .....	34
34	Conidial septa not accentuated .....	35
35	.....	<i>Bipolaris sorghicola</i> .

Fonte: Sivanesan, 1987.

### Resultados e Discussão

Baseando-se nas características morfológicas do patógeno, e depois de confirmada sua patogenicidade, pode-se concluir que o agente etiológico da doença é *B. sorghicola*.

Em 1999, a ocorrência de *B. sorghicola* foi relatada afetando *Sorghum halepense*, na região de La Plata, na Argentina. Segundo os autores, 80% de severidade foi verificada em plantas adultas (Acciarest & Mônaco, 1999). Este fato mostra o potencial do patógeno em causar perdas severas para a cultura do sorgo também no Brasil, que tem, na maior parte das regiões produtoras, condições de umidade alta e temperaturas que favorecem a ocorrência e disseminação da doença. E além de ter outras hospedeiras, o patógeno pode sobreviver em restos culturais, o que torna possível o aumento do inóculo entre plantios. Ocorrência em alta severidade já foi observada por Casela e Guimarães (informação pessoal) na região de Jardinópolis, SP, onde foram verificadas epidemias em plantios experimentais de sorgo.

Dentre as três metodologias de inoculação avaliadas, verificou-se que a inoculação com pulverização em plantas aos 15 dias do plantio, mantidas em condições de umidade e temperaturas em torno de 18 °C, foi a mais indicada para estudos com *B. sorghicola*, visto que as outras metodologias testadas não resultaram em sintomas facilmente observáveis da doença.

### Conclusão

*Bipolaris sorghicola* foi identificado como o agente etiológico da doença.

Sugere-se que a doença seja chamada “mancha alvo”.

O método de inoculação em plantas de sorgo, aos 15 dias após o plantio, sob condições de umidade elevada e temperatura de 18 °C foi o mais indicado para a realização de futuros trabalhos com este patógeno.

### Referências Bibliográficas

ACCIAREST.; MÔNACO. First report of *Bipolaris sorghicola* on Johnsongrass in Argentina. **Plant Disease**, v.83, 1999.

DALMACIO, S. C. Foliar disease-target leaf spot. In: FREDERIKSEN, R.A. (Ed.). **Compendium of Sorghum diseases**. Texas: American Phytopathological Society, 1986. p 16-17.

SIVANESAN, A. **Graminicolous species of *Bipolaris*, *Curvularia*, *Drecheslera*, *Exserohilum* and their teleomorphs**. CAB- International Mycological Institute, 1987, p. 27.

ELLIS, M. B. **Dematiaceous Hyphomycetes** – International Mycological Institute – CAB International, 1993, p. 401-406.