

**VARIABILIDADE PATOGÊNICA EM**  
*Peronosclerospora sorghi* (Weston & Uppal) C.G. Shaw,  
**AGENTE ETIOLÓGICO DO MÍLDIO DO SORGO, E**  
**RESISTÊNCIA GENÉTICA NO HOSPEDEIRO**

**FLÁVIA CHRISTIANE RUFINI BARBOSA**

**2004**

57541  
049335

**FLÁVIA CHRISTIANE RUFINI BARBOSA**

**VARIABILIDADE PATOGÊNICA EM *Peronosclerospora sorghi* (Weston & Uppal) C.G. Shaw, AGENTE ETIOLÓGICO DO MÍLDIO DO SORGO, E RESISTÊNCIA GENÉTICA NO HOSPEDEIRO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Fitopatologia, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientador

Prof. Ludwig Heinrich Pfenning

LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL

2004

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca Central da UFLA**

Barbosa, Flávia Christiane Rufini

Variabilidade patogênica em *Peronosclerospora sorghi* (Weston & Uppal) C.G. Shaw, agente etiológico do míldio do sorgo, e resistência genética no hospedeiro / Flávia Christiane Rufini Barbosa. -- Lavras : UFLA, 2004.

89 p. : il.

Orientador: Ludwig Heinrich Pfenning.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. *Peronosclerospora sorghi*. 2. Sorgo. 3. Variabilidade. 4. Variedade resistente. 5. Inoculação. 6. Conídio. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-633.1749452

**FLÁVIA CHRISTIANE RUFINI BARBOSA**

**VARIABILIDADE PATOGENICA EM *Peronosclerospora sorghi* (Weston & Uppal) C.G. Shaw, AGENTE ETIOLÓGICO DO MÍLDIO DO SORGO, E RESISTÊNCIA GENÉTICA NO HOSPEDEIRO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Fitopatologia, para obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 03 de março de 2004

Pesq. Dr. Carlos Roberto Casela

EMBRAPA Milho e Sorgo

Pesq. Dr. Fredolino Giacomini dos Santos

EMBRAPA Milho e Sorgo

Prof. Dr. Eduardo Alves

UFLA

Prof. Dr. Mário Lúcio Vilela Resende

UFLA

  
Prof. Dr. Ludwig Heinrich Pfennig

UFLA

(Orientador)

LAVRAS  
MINAS GERAIS – BRASIL

**“E a vida é de fato escuridão, exceto onde houver impulso.  
E todo impulso é cego, exceto onde houver sabedoria.  
E toda sabedoria é vã, exceto onde houver trabalho.  
E todo trabalho é vazio, exceto onde houver amor.  
Quando você trabalha com amor, você se liga consigo mesmo, com o outro  
e com Deus...”**

**Kalil Gibran**

**Aos meus pais, Anézio e Maria, irmãos, Gustavo e Rodrigo, e  
aos mais novos integrantes da família, Breno e Vinícius, com  
todo meu carinho,**

**DEDICO.**

**Ao meu noivo, Gustavo Ferreira de Paula, companheiro  
imprescindível em todas as situações,**

**OFEREÇO.**

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pela oportunidade de vida.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Fitopatologia pela possibilidade de realização do curso de mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão de bolsa de estudos.

À Embrapa Milho & Sorgo, pela recepção e disponibilização de materiais e espaço físico para a condução dos experimentos.

À Empresa de sementes Dow Agro Sciences, pelo apoio financeiro.

À Fundação de Apoio a Pesquisa e Desenvolvimento (FAPED), em especial a Kelly, pelas compras necessárias efetuadas.

Ao Dr. Carlos Roberto Casela, pela orientação, incentivo, amizade, apoio e contribuição para o meu aperfeiçoamento profissional.

Ao Dr. Ludwig H. Pfenning, pela oportunidade, amizade, orientação e confiança.

Ao técnico de operações, Clóvis Geraldo Ribeiro, pelo valioso apoio e constante auxílio nas tarefas práticas executadas.

A todos os professores do Departamento de Fitopatologia, pelos conhecimentos transmitidos, em especial aos professores Mário Lúcio V. Resende e Eduardo Alves, pela atenção e valiosas sugestões.

Aos pesquisadores Drs. Antônio Carlos de Oliveira, Gilson Villaça, Alexandre da Silva Ferreira e Ivanildo Evódio Marriel, pelas dicas, contribuições e incentivos.

Aos funcionários do Setor de Melhoramento de Sorgo e ao pesquisador Dr. Fredolino Giacomini dos Santos, pela orientação, auxílio e disponibilização das sementes utilizadas no trabalho.

A todos os Funcionários da Embrapa, especialmente dos setores de Manutenção e Transporte e Campos Experimentais, pela valiosa prestação de serviços.

Às bibliotecárias da Embrapa, em especial Vânia, pelo auxílio e atenção durante toda a confecção deste trabalho.

À estudante Dagma e à estagiária do laboratório de Resistência a Doenças da Embrapa Milho & Sorgo, Eliana, pela contribuição nos experimentos.

Ao Gustavo de Paula, pelo amor, apoio, dedicação e paciência, e a seus familiares, Geraldo, Doralda, Bruna, Bia e Gui, pelo carinho e recepção.

Aos meus pais, Anézio e Maria, sem os quais não seria possível esta conquista.

Aos meus irmãos, Gustavo e Rodrigo, cunhadas Alexana e Érika, e todos de minha família, em especial Márcia Rufini e Rosa Rufini, pela força constante e por compreender minha ausência.

A Marcionília Ferreira, pela atenção e acolhida.

Às amigas Zuleide Chaves e Sílvia Jardim, pela convivência, amizade e sugestões.

A todas as pessoas envolvidas na execução deste trabalho, o meu muito obrigada !



## SUMÁRIO

	Página
RESUMO .....	i
ABSTRACT .....	iii
1 INTRODUÇÃO GERAL .....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO .....	4
2.1 Taxonomia, morfologia e disseminação de <i>Peronosclerospora sorghi</i> .....	4
2.2 Sintomas, biologia e epidemiologia da doença .....	7
2.3 Variabilidade patogênica em populações de fungos .....	10
2.3.1 Variabilidade patogênica em <i>Peronosclerospora sorghi</i> .....	12
2.4 Resistência a fitopatógenos .....	13
2.4.1 Resistência em sorgo ao míldio .....	15
2.4.1.1 Identificação de fontes de resistência ao míldio .....	16
2.4.1.2 Métodos de avaliação para resistência ao míldio .....	18
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	19
<b>CAPÍTULO 1: IDENTIFICAÇÃO DE RAÇAS DE <i>PERONOSCLEROSPORA SORGHI</i>, AGENTE ETIOLÓGICO DO MÍLDIO DO SORGO, NO BRASIL</b>	<b>30</b>
RESUMO .....	31
ABSTRACT .....	32
1 INTRODUÇÃO .....	33
2 MATERIAL E MÉTODOS .....	34
2.1 Genótipos utilizados .....	34
2.2 Obtenção dos isolados .....	35
2.3 Manutenção e produção de inóculo .....	37
2.4 Inoculação .....	38
3 RESULTADOS .....	46
4 DISCUSSÃO .....	58
5 CONCLUSÕES .....	64

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	64
CAPÍTULO 2 : IDENTIFICAÇÃO DE FONTES DE RESISTÊNCIA AO MÍLDIO DO SORGO ( <i>Peronosclerospora sorghi</i> ).....	68
RESUMO .....	69
ABSTRACT .....	70
1 INTRODUÇÃO .....	71
2 MATERIAL E MÉTODOS .....	72
2.1 Genótipos utilizados.....	73
2.2 Avaliações de genótipos de sorgo a <i>P. sorghi</i> em campo .....	73
2.3 Avaliações de genótipos de sorgo a <i>P. sorghi</i> em casa de vegetação .....	75
3 RESULTADOS.....	77
4 DISCUSSÃO.....	83
5 CONCLUSÕES.....	86
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	87

## RESUMO

BARBOSA, Flávia Christiane Rufini. Variabilidade patogênica em *Peronosclerospora sorghi* (Weston & Uppal) C.G. Shaw, agente etiológico do míldio do sorgo, e resistência genética no hospedeiro. 2004. 89p. Dissertação (Mestrado em Agronomia / Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.\*

Foram objetivos deste trabalho verificar a ocorrência de raças de *Peronosclerospora sorghi* no Brasil, por meio da avaliação da virulência de 25 isolados do patógeno das regiões Sul e Sudeste brasileiras, em trinta linhagens de sorgo diferenciadoras; estabelecer qual a melhor metodologia de inoculação artificial de conídios para testes de identificação de raças e avaliar as reações de 42 genótipos de sorgo do programa de melhoramento da Embrapa Milho e Sorgo para essas raças, almejando identificar fontes de resistência à doença. Os experimentos foram conduzidos na Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas. O teste de identificação de raças foi realizado em casa de vegetação, utilizando-se metodologias de inoculação de conídios em sementes pré-germinadas e em plântulas. As avaliações foram realizadas de acordo com a presença ou ausência de esporulação do patógeno. O teste de identificação de fontes de resistência foi conduzido em campo, sob condições de infecção natural. As avaliações foram feitas baseando-se na porcentagem de plantas com infecção sistêmica. Os genótipos avaliados em campo foram avaliados também em casa de vegetação, utilizando-se metodologia de inoculação de conídios em plântulas. Alta variabilidade do patógeno foi verificada entre os 25 isolados nas duas metodologias de inoculação. O método de inoculação em sementes pré-germinadas mostrou-se favorável ao processo infeccioso. Já a metodologia de inoculação em plântulas foi mais propícia para testes de identificação de raças, representando melhor a forma de infecção ocasionada por conídios que ocorre no campo. De acordo com as reações diferenciais dos genótipos utilizando-se a inoculação em plântulas, foram identificadas 24 raças do patógeno. Apenas dois isolados apresentaram a mesma reação diferencial. Os genótipos CMSXS156B, CMSXS157B, CMSXS234B, TxARG-1B, 9910032, 9910296, Tx430, QL3 e SC170-6-17 foram resistentes em campo e casa de vegetação e são prováveis fontes de resistência ao míldio do sorgo no Brasil. Todos os genótipos resistentes em casa de vegetação foram resistentes também em campo. Por outro lado, alguns genótipos resistentes em campo apresentaram reação de susceptibilidade em casa de vegetação. Todos os materiais susceptíveis em

---

\*Comitê de orientação: Ludwig H. Pfenning – UFLA; Carlos Roberto Casela - Embrapa Milho e Sorgo.

campo, com no mínimo de 20% de plantas infectadas, apresentaram o mesmo comportamento em casa de vegetação.

---

**\*Comitê de orientação: Ludwig H. Pfenning – UFLA; Carlos Roberto Casela -  
Embrapa Milho e Sorgo.**

## ABSTRACT

BARBOSA, Flávia Christiane Rufini. **Pathogenic variability in *Peronosclerospora sorghi* (Weston & Uppal) C.G. Shaw, causal agent of sorghum downy mildew e genetic resistance of the host.** 2004. 89p. (Master in Agronomy / Plant Pathology) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.\*

There were three objectives of this work: to verify the occurrence of races of *Peronosclerospora sorghi* in Brazil evaluating pathogenicity of 25 isolates obtained from the regions South and Southeast against 30 differential cultivars; to evaluate the best method of artificial conidial inoculation identifying races; and to evaluate the reaction of 42 sorghum genotypes from the EMBRAPA Milho e Sorgo breeding program looking for new sources of resistance to the pathogen. Experiments were conducted at the EMBRAPA Milho e Sorgo research center. Races were identified by inoculating pre-germinated seeds and seedlings with conidia in the glasshouse. The criterion for evaluation was the presence or absence of sporulation of the pathogen. Sources of resistance were identified in field trials in conditions of natural infection using the percentage of plants with systemic infection for evaluation. Host genotypes evaluated in field conditions were also evaluated in the glasshouse, using artificial inoculation with conidia in seedlings. A high variability was recorded between the isolates tested with both of the inoculation methods used. The inoculation method using pre-germinated seeds produced high infection rates. The inoculation method using seedlings was more efficacious in identifying races since it represents better the way of conidial infection in natural conditions. When seedlings were inoculated with conidia the differential reaction of the host genotypes evidenced the existence of 24 races of the pathogen. Only two isolates showed the same differential reaction. Host genotypes CMSXS156B, CMSXS157B, CMSXS234B, TxARG-1B, 9910032, 9910296, Tx430, QL3 and SC170-6-17 proved to be resistant both in the glasshouse and the field and may represent new sources of resistance against the sorghum downy mildew in Brazil. All the genotypes that showed resistance in the glasshouse, also showed resistance also in the field. The reverse was not true and - some genotypes that showed resistance in the field demonstrated hypersensitive reaction in the glasshouse. The material susceptible in the field with a minimum of 20% symptomatic plants, presented the same behavior in the glasshouse.

---

\*Guidance committee: Ludwig H. Pfenning – UFPA; Carlos Roberto Casela - Embrapa Milho e Sorgo.

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

O míldio do sorgo, causado por *Peronosclerospora sorghi* (Weston & Uppal) C.G. Shaw, adquire, em nossas condições, uma grande importância pelo fato de o patógeno ter como hospedeiros o milho e o sorgo, sendo o primeiro uma cultura tradicional e já estabelecida e o segundo uma cultura em expansão no Brasil.

Nos últimos 10 anos houve uma grande expansão da área cultivada com sorgo no país, principalmente devido à adaptação da cultura ao plantio de outono em sucessão à soja, quando o risco climático para a cultura do milho é maior. A região Centro Oeste brasileira é responsável por 65% da produção total do sorgo no país. Nesta região, a cultura é semeada em fevereiro-março, algumas vezes, sem qualquer adição de fertilizante, aproveitando a adubação residual da soja. O estado de Goiás, na região central do Brasil, é o maior produtor de sorgo, com 37% do total produzido no país (Casela *et al.*, 2002).

Na safra de 1998/99, o país colheu 1.100 mil toneladas de grãos de sorgo e na safra de 2000/01, a produção alcançou mais de 1.586 mil toneladas. Com isso, o incremento na produção foi da ordem de 58,6%, em apenas 2 anos (Von Pinho & Vasconcelos, 2002). Safra ainda maior foi obtida em 2003, quando foram produzidas 1.696,7 mil toneladas de grãos (Conab, 2003). Estes dados evidenciam a importância que a cultura tem para o Brasil e justificam, em parte, a preocupação com fatores determinantes de perdas na produção, como doenças, principalmente.

O agente etiológico do míldio do sorgo, *Peronosclerospora sorghi*, encontra-se disseminado em muitas regiões tropicais e subtropicais do mundo, principalmente onde se realiza o plantio destas culturas (Pande *et al.*, 1997). Considerando-se que plantas infectadas com *Peronosclerospora sorghi* nos primeiros estádios de desenvolvimento serão estéreis, é fácil imaginar as perdas

que poderão ocorrer nestas culturas quando as condições forem favoráveis ao aparecimento da doença (Fernandes, 1980).

*Peronosclerospora sorghi* tem causado severas epidemias em sorgo e milho em vários países (Williams, 1984). No estado do Texas (EUA), epidemia de míldio causou perda estimada em US\$ 2,5 milhões, com incidência de 90% em alguns campos de sorgo (Frederiksen *et al.*, 1969). Em Israel, campos de milho e sorgo forrageiros apresentaram incidências superiores a 50% (Kenneth, 1976). Verificou-se, na África do Sul, incidência de infecção sistêmica ocasionada por *P. sorghi* em campos de milho e sorgo maior que 40% (Van der Westhuizen, 1977). No Brasil, a doença foi observada recentemente, com alta incidência e severidade na região Sudeste, causando perdas significativas em lavouras de produção de sementes de sorgo. Quando a doença ocorre nos estádios iniciais do desenvolvimento da planta, a redução na produção pode atingir mais de 50% (Von Pinho & Vasconcelos, 2002). Essas perdas podem chegar a 80%, principalmente se cultivares altamente susceptíveis são utilizadas. Estudos sobre o efeito do míldio em sorgo granífero têm indicado relação linear significativa entre incidência de infecção sistêmica e perdas no rendimento em densidades normais de plantio (Craig *et al.*, 1989; Frederiksen *et al.*, 1973; Tuleen & Frederiksen, 1981).

Entre as medidas adotadas para o controle do míldio do sorgo estão as utilizações de fungicidas, cultivares resistentes e adoção de práticas culturais. Fungicidas com princípio ativo metalaxyl utilizados no tratamento de sementes controlaram efetivamente a doença no México, Estados Unidos e África (Craig & Odvody, 1992; Bock *et al.*, 2000a). No mercado brasileiro, não há, entretanto, produto registrado pelo Ministério da Agricultura para o seu controle.

O uso de hospedeiros resistentes tem sido o método mais eficiente para o controle do míldio do sorgo (Gimenes-Fernandes *et al.*, 1984; Frederiksen & Renfro, 1977). No entanto, tal medida pode ser dificultada pela variabilidade

apresentada pelo patógeno. O uso contínuo e prolongado do mesmo genótipo, na mesma área, favorece a população do patógeno com o surgimento de novas raças, torna o material utilizado susceptível e prejudica o controle com o uso de hospedeiros resistentes (Williams *et al.*, 1982). Nestes casos, a “quebra” de resistência genética se deve à evolução da população local do patógeno devido à seleção de mutantes, recombinantes ou migrantes, melhor adaptados à cultivar resistente (McDonald & Linde, 2002). Assim, o desenvolvimento de resistência ao mildio, em programas de melhoramento de sorgo, deve levar em consideração a possibilidade de ocorrência de “quebra” da resistência, determinada pela variabilidade patogênica encontrada nas populações de *Peronosclerospora sorghi* (Craig & Odvody, 1992). Apesar dos danos que a doença tem causado à cultura do sorgo, não há relatos específicos na literatura sobre a variabilidade do patógeno no Brasil. Diante da escassez de informações sobre as raças do patógeno existentes, bem como da necessidade de identificação de fontes de resistência para os trabalhos de melhoramento, objetivou-se:

- a. verificar a ocorrência de raças de *Peronosclerospora sorghi* no Brasil, por meio da avaliação da virulência de isolados do patógeno em plantas hospedeiras diferenciadoras;
- b. estabelecer qual a melhor metodologia de inoculação artificial de conídios para a condução de testes de identificação de raças e de fontes de resistência;
- c. avaliar as reações das principais linhagens e híbridos do programa de melhoramento do CNPMS/ EMBRAPA – Sete Lagoas, MG, a essas raças, objetivando identificar fontes de resistência à doença.



## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Taxonomia, morfologia e disseminação de *Peronosclerospora sorghi*

O primeiro relato de infecção por *Peronosclerospora sorghi* em sorgo ocorreu na Índia, em 1907. O patógeno foi identificado como *Sclerospora graminicola* devido à similaridade entre os oósporos observados e os de *Sclerospora graminicola*, de ocorrência em milheto (Butler, 1907). Alguns anos depois, a fase assexual do patógeno em sorgo foi observada. Verificou-se que os esporos assexuais do fungo germinavam, formando um tubo germinativo, não ramificado e não havia liberação de zoósporos do esporângio, como ocorre com o gênero *Sclerospora*. O patógeno foi então designado *Sclerospora graminicola* var. *Andropogonis-sorghii* (Kulkarni, 1913). Estudos posteriores relativos às características morfológicas apresentadas e a gama de hospedeiros descreveram o patógeno como *Sclerospora sorghi* (Weston & Uppal, 1932). No entanto, as diferenças apresentadas pelo patógeno foram suficientes para designar o novo gênero *Peronosclerospora*, o qual incluía todos os mildios de gramíneas caracterizados pela germinação direta do esporângio, por um tubo germinativo, como ocorre com *P. sorghi* (Shaw, 1976; 1978; Shaw & Waterhouse 1980). O gênero *Sclerospora* foi retido apenas para espécies que produziam zoósporos de esporângios.

O gênero *Peronosclerospora* pertence à família Peronosporaceae, ordem Peronosporales, subclasse Peronosporomycetidae e classe Oomycetes (Shaw, 1978; 1981). Uma classificação mais recente propõe que os oomycetes sejam reconhecidos como classe Peronosporomycetes e divididos em 3 subclasses: Peronosporomycetidae, Rhipidiomycetidae e Saprolegniomycetidae (Dick, 1995; 2001). Dessa forma, os mildios de gramíneas estariam posicionados na subclasse Saprolegniomycetidae, com base em uma série de características morfológicas, epidemiológicas, ultra-estruturais e biogeográficas (Dick *et al.*,

1999) e os gêneros *Sclerospora* e *Peronosclerospora* na ordem Sclerosporales, família Sclerosporaceae (Kirk *et al.*, 2001). Os míldios de gramíneas tais como *Sclerospora* spp., *Sclerophthora* spp. e *Peronosclerospora* spp estão mais relacionados aos míldios de Saprolegniomycetidae, especialmente Leptolegniaceae, do que aos Pythiales ou aos Peronosporales (Spencer & Dick, 2002).

*P. sorghi* apresenta fases assexual e sexual. A fase assexual do patógeno é caracterizada pela produção de esporângios, em esporangióforos eretos, hialinos, que emergem dos estômatos das folhas. Como os esporângios germinam diretamente, formando um tubo germinativo, sem liberação de zoósporos, devem ser corretamente denominados de conídios e os esporangióforos, conidióforos. O conidióforo consiste de célula basal bem desenvolvida e eixo principal, com ramificações dicotômicas no ápice. A célula basal apresenta diâmetro de 7-9  $\mu\text{m}$  e 100-150  $\mu\text{m}$  de comprimento. Normalmente há um septo completo entre o eixo principal e o ápice da célula basal. O eixo principal tem 15-20  $\mu\text{m}$  de diâmetro e comprimento menor ou igual ao da célula basal, normalmente 80-150  $\mu\text{m}$  do septo até o ponto de ramificação. As ramificações são curtas e podem ser primárias, secundárias e terciárias, que terminam em um esterigma, com aproximadamente 13  $\mu\text{m}$  de comprimento. Os conídios são produzidos nos esterigmas, têm formato ovalado, são desprovidos de papilas e poros e medem 15-29 x 15-27  $\mu\text{m}$ . Essas descrições estão de acordo com relatos de Weston & Uppal (1932).

Isolados de *P. sorghi* provenientes do Texas e da Tailândia, apresentaram medidas compreendidas na faixa estabelecida por Weston & Uppal (1932), apesar de apresentarem algumas diferenças entre si em relação ao comprimento do conídio. No entanto, as diferenças morfológicas apresentadas por estes isolados não foram suficientes para separá-los em espécies diferentes de *Peronosclerospora* (Schmitt *et al.*, 1979). A morfologia de isolados africanos

de *P. sorghi* também foi avaliada (Bock *et al.*, 2000b). Embora com algumas diferenças entre isolados, de modo geral, a morfologia apresentada foi típica de *P. sorghi*. Os conídios mediram 21-23 x 17-19  $\mu\text{m}$  e o conidióforo apresentou comprimento de 117-136  $\mu\text{m}$ , da célula basal ao ponto de ramificação (Bock *et al.*, 2000b).

A reprodução sexuada é caracterizada pelo desenvolvimento de oósporos após a fusão do oogônio com o anterídio, dentro do mesófilo foliar, em fileiras e entre as nervuras das folhas (Safeeulla & Thirumalachar, 1955). Os oósporos são esféricos com diâmetro de 31 - 37  $\mu\text{m}$ , embora alguns extremos possam ocorrer entre 25 e 43  $\mu\text{m}$ . A parede do oósporo apresenta cor amarelo-alaranjado e espessura de 1 a 3  $\mu\text{m}$ . Os oósporos germinam por um tubo germinativo ramificado e não septado e contém material granular com massa de glóbulos oleosos (Weston & Uppal, 1932).

*Peronosclerospora sorghi* encontra-se disseminado em muitas regiões tropicais e subtropicais, onde se cultiva sorgo e milho (Jeger *et al.*, 1998). É considerado um patógeno do “Velho Mundo” e há evidências de sua origem na África ou Ásia (Pawar, 1986). O primeiro relato da ocorrência de *P. sorghi* no continente americano foi em 1961, no estado do Texas, EUA (Frederiksen, 1980). A partir desta data, o patógeno foi verificado no Brasil, mas sem registros e com pequena incidência. Somente a partir de 1974/75 foram verificadas incidências maiores nos estados do Rio Grande do Sul e São Paulo (Gimenes-Fernandes & Nakamura, 1977). Atualmente, além destes estados, a doença também tem causado severas epidemias no Paraná e em Minas Gerais, tendo sido relatada também em estados da região Centro-Oeste (Casela, comunicação pessoal). Devido à disseminação do míldio para áreas de cultivo do sorgo, é necessário entender a variabilidade patogênica de *P. sorghi*, e posteriormente, desenvolver cultivares resistentes para o manejo da doença (Casela *et al.*, 2002).

## 2.2 Sintomas, biologia e epidemiologia da doença

Os sintomas podem ser sistêmicos ou localizados. Os sintomas sistêmicos se caracterizam por estrias verdes e cloróticas paralelas, indicando a presença dos oósporos formados entre as nervuras das folhas (Jeger *et al.*, 1998). Em condições de temperatura amena e ambiente úmido, a superfície abaxial da área clorótica foliar é coberta por uma camada branca, que consiste de conídios e conidióforos de *Peronosclerospora sorghi*. A infecção localizada caracteriza-se por manchas cloróticas, retangulares, limitadas pelas nervuras laterais que também podem apresentar crescimento pulverulento branco na superfície abaxial das folhas, em condições úmidas e frias (Craig, 1986). Em estádios avançados de infecção sistêmica as folhas se rasgam pela ação do vento e os oósporos são liberados infestando o solo, onde sobrevivem por vários anos na ausência do hospedeiro (Safeulla & Shetty, 1978).

Em milho, diferenças nos sintomas em relação ao grau de esporulação assexual e habilidade em produzir as estruturas sexuais são observadas (Payak, 1975; Williams, 1984; Frederiksen *et al.*, 1969). De maneira geral, sob condições ambientais favoráveis, a esporulação assexual do patógeno pode ser abundante, embora menos densa do que a encontrada em sorgo. O rasgamento foliar raramente ocorre em milho. As lesões locais são alongadas, cloróticas e ocorrem principalmente nas folhas baixas (Frederiksen *et al.*, 1973).

O processo de infecção pelo mildio se dá quando o patógeno estabelece contato e se nutre dos tecidos susceptíveis do hospedeiro. A susceptibilidade do hospedeiro, a virulência do patógeno e as condições ambientais favoráveis são necessárias para que o processo de infecção ocorra (Safeulla, 1975). As infecções podem ser ocasionadas por conídios ou oósporos. As condições ambientais favoráveis para o processo infeccioso e esporulação assexual do patógeno são alta umidade relativa do ar e temperatura entre 21°C a 23°C (Shetty & Safeulla, 1981; Safeulla & Shetty, 1978). Exigências quanto à intensidade

luminosa também são verificadas. Para esporular, o patógeno requer um período de no mínimo 4 horas de alta intensidade luminosa e a seguir, deve ser submetido à condição de escuro (Schmitt & Freytag, 1974; Safeeulla & Shetty, 1978).

O tubo germinativo cresce sobre a superfície foliar e um apressório se forma sobre a abertura estomatal (Jones, 1971). A estrutura de penetração forma uma vesícula oval, subestomatal, dando origem a uma ou mais hifas de infecção. As hifas crescem nos espaços intercelulares do mesófilo (Maunch-Mani *et al.*, 1989) e, em cultivares susceptíveis, a colonização sistêmica progride com o desenvolvimento de haustórios (Yeh & Frederiksen, 1980). As hifas atingem o meristema apical da planta e invadem as folhas e flores em desenvolvimento. Os sintomas se manifestam sete dias após a infecção. Em cultivares resistentes, necroses ocorrem nos locais de penetração (Maunch-Mani *et al.*, 1989).

Lesões locais desenvolvem-se aproximadamente sete dias após a infecção (Cohen & Sherman, 1977) e constituem importante fonte de inóculo conidial para infecções sistêmicas e locais durante a estação de cultivo (Bock & Jeger, 2002).

Estudos recentes indicam que os conídios de *P. sorghi* podem causar infecção sistêmica não apenas nos estádios iniciais do desenvolvimento da cultura, mas também em fases mais avançadas e podem ser também responsáveis, juntamente com os oósporos, por infecções sistêmicas em condições de campo (Narayana *et al.*, 2002). Cabe ressaltar que os conídios são efêmeros e morrem dentro de 4 horas após a maturidade, mesmo sob condições de umidade e temperatura amena. Portanto, uma rápida disseminação é necessária (Jeger *et al.*, 1998). A disseminação de conídios é veiculada por vento e água. No entanto, também pode ocorrer devido à existência de micélio localizado no pericarpo, no endosperma ou no embrião das sementes (Chabrabarty *et al.*, 1998; Pinto, 1999).

Vários outros estudos sobre as condições ambientais exigidas para infecção e esporulação assexual de diferentes isolados e também sobre a epidemiologia da doença têm sido conduzidos em diferentes regiões (Bonde *et al.*, 1978; Bonde *et al.*, 1992; Safeuulla & Shetty, 1978; Shenoj & Ramalingam, 1976; Shenoj & Ramalingam, 1979; Ramalingam & Rajasab, 1981; Bonde *et al.*, 1985; Bock *et al.*, 1998; Bock *et al.*, 1999; Bock *et al.*, 2000b; Wang *et al.*, 2000; Setty *et al.*, 2001). Alguns destes estudos sugerem pouca variabilidade morfológica entre isolados de *P. sorghi*, limitando a especialização em biótipos diferentes (Bonde *et al.*, 1985; Bock *et al.*, 2000b).

A infecção pelos oósporos é favorecida por temperatura mínima de 10°C e baixa umidade do solo (Craig, 1986). Alta incidência de infecção sistêmica foi encontrada em solos com 80% de areia, temperaturas entre 24°C-29°C e umidade a 0,2 bar (Schuh *et al.*, 1987 a;b). Raízes de hospedeiros e não hospedeiros podem estimular a germinação dos oósporos (Pratt, 1978). Estes garantem a sobrevivência do patógeno na ausência do hospedeiro e favorecem a disseminação a longa distância (Bock & Jeger, 1996).

A disseminação dos oósporos no solo pode ser feita por homens ou animais, aderido aos pés ou implementos (Williams, 1984). A disseminação por sementes é realizada pelos oósporos imersos nas glumas ou aderidos à superfície das sementes (Chabrabarty *et al.*, 1998; Pinto, 1999). O vento também é importante na disseminação destas estruturas, principalmente a longas distâncias (Jeger *et al.*, 1998; Bock *et al.*, 1997). Devido à disseminação de oósporos e também micélio via sementes, o míldio é uma doença de importância quarentenária na Índia e em vários outros países (Chabrabarty *et al.*, 1998).

Normalmente, a produção de oósporos segue um padrão monocíclico, enquanto a produção de conídios pode seguir padrão policíclico. Nos EUA, os oósporos agem como fonte primária e principal de inóculo para infecções sistêmicas, resultando em reboleiras de plantas doentes (Frederiksen, 1980;

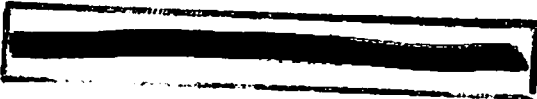
Tuleen *et al.*, 1980; Schuh *et al.*, 1986; 1988). Na Índia (Ramalingam & Rajasab, 1981) e em Israel (Cohen & Sherman, 1977), entretanto, os conídios são a principal causa de infecção.

Além de sorgo e milho, o patógeno infecta também sorgo vassoura e outras gramíneas e espécies perenes como *Sorghum halepense*. Isso agrava ainda mais o problema, pois estas espécies acabam tornando-se fonte de inóculo constante para cultivos subseqüentes de sorgo (Pande & Singh, 1992).

### 2.3 Variabilidade patogênica em populações de fungos

Os fungos fitopatogênicos, devido à sua alta plasticidade genética e o seu grau de dependência em relação aos fatores ambientais estão sujeitos a variações fenotípicas e genotípicas. Considerando-se as variações genotípicas, há evidências de variabilidade em diversos caracteres, entre eles, a patogenicidade (Santos, 2003). Se este for o caráter em questão, variações genotípicas podem ocasionar o surgimento de novas raças do patógeno. A existência de raças patogênicas no reino dos fungos foi demonstrada por Barrus (1911), estudando o sistema feijão – *Colletotrichum lindemuthianum*. A quebra da resistência genética de cultivares de trigo a ferrugem do colmo foi constatada devido à ocorrência de variantes na população de *Puccinia graminis* f.sp. *tritici*, as quais foram denominadas raças fisiológicas (Stakman, 1914). Desde então, inúmeras raças têm sido descritas em vários sistemas patógeno-hospedeiro. Raças verticais são populações do patógeno que podem ser diferenciadas por suas interações com cultivares de uma única espécie do hospedeiro que possuem resistência vertical (Robinson, 1969).

Os fatores que determinam alterações genéticas em populações de fungos fitopatogênicos são: mutação, recombinação sexual, heterocariose, parassexualidade, herança citoplasmática e transposons (Casela & Guimarães, 1996). Não há relatos específicos sobre os fatores que ocasionam variabilidade



patogênica em populações de *P. sorghi*. Aliás, poucas informações são disponíveis sobre a variabilidade apresentada pelo patógeno. No entanto, sabe-se que mildios de gramíneas produzem grande quantidade de esporos assexuais em plantas infectadas e, mesmo com uma taxa de mutação relativamente baixa, muitos esporos assexuais com novos genótipos virulentos podem surgir durante a estação de cultivo. Além disso, a reprodução sexual fornece meios para a recombinação. De acordo com as bases teóricas da variabilidade patogênica, há evidência experimental para a ocorrência de raças fisiológicas em pelo menos alguns dos mildios de gramíneas (Williams, 1984).

Estudos mais avançados relativos a esta questão foram conduzidos com outros oomicetos. *Phytophthora infestans* em batata ilustra o efeito da variação genética e recombinação nas populações do patógeno. A maior variação genética e recombinação sexual permite às populações do México, provável centro de origem de *Phytophthora infestans*, rápida adaptação aos novos genes de resistência empregados, comparadas às populações européias (Niederhauser *et al.*, 1954). Já a população européia de *Bremia lactucae* é geneticamente variável para virulência. Na Europa, o provável centro de origem e diversidade deste fungo (Hulbert & Michelmore, 1988), os genes de resistência têm vida útil curta (Gustafsson *et al.*, 1985). No entanto, a população da Califórnia não é tão variável como a população européia. A geração de novas raças por meio da recombinação sexual é limitada na Califórnia (Ilott *et al.*, 1987).

O marcador genotípico de maior interesse para fitopatologistas e melhoristas e, conseqüentemente, o mais estudado é a virulência (McDonald *et al.*, 1989). Variabilidade patogênica tem sido avaliada tradicionalmente por meio de estudos de virulência com hospedeiras diferenciadoras, contendo diferentes genes de resistência (McDonald *et al.*, 1989). No entanto, além de análises de virulência, isoenzimas e técnicas moleculares são também utilizadas como



marcadores para quantificar variabilidade em populações de patógenos (Casela, 1992).

Muito se avançou no conhecimento sobre a variabilidade de agentes fitopatogênicos. Isto permitiu, conseqüentemente, avanços no manejo de doenças por meio da resistência genética. A utilização de virulência como marcador na descrição da diversidade existente em populações de patógenos é importante no sentido de se identificar dissociações de virulência que permitam aumentar a durabilidade da resistência (Casela & Guimarães, 1996). Assim também, a incorporação de ferramentas da genética de populações tem sido fundamental para o estudo da variabilidade patogênica. A recombinação sexual é importante em populações de reprodução sexuada, pela possibilidade potencial de surgimento de novos genótipos. O fluxo de genes e a deriva genética têm implicações no manejo de doenças, pois permitem uma maior visão do grau de relacionamento entre populações (Casela & Guimarães, 1996).

### 2.3.1 Variabilidade patogênica em *Peronosclerospora sorghi*

O primeiro relato de variabilidade patogênica de *Peronosclerospora sorghi* em sorgo ocorreu nos EUA, no fim da década de 1970. A nova raça do patógeno foi diferenciada devido à pressão de seleção exercida pelo cultivo extensivo de um híbrido comercial de sorgo resistente à doença (Craig & Frederiksen, 1980). Atualmente, cinco raças de *P. sorghi* têm sido identificadas nas Américas, três no Texas (Craig & Frederiksen, 1983), uma no Brasil (Fernandes & Schaffert, 1983) e uma em Honduras (Fernández & Meckenstock, 1987; Craig & Odvody, 1992). Estudos com isolados de diferentes regiões geográficas têm indicado a possibilidade de uma variabilidade maior na população do patógeno (Pawar *et al.*, 1985; Pawar, 1986). Variabilidade patogênica também foi relatada em estudos conduzidos na África entre populações de *P. sorghi* geograficamente distintas (Bock *et al.*, 2000b).

As três raças de *P. sorghi* encontradas no Texas (denominadas raças 1, 2 e 3) foram identificadas por reações diferenciais das cultivares de sorgo Tx412, CS3541 e Tx430. As raças 1 e 2 foram diferenciadas de acordo com a habilidade em induzir a fase sistêmica do míldio, respectivamente, nas cultivares de sorgo Tx412 e CS3541 (Craig & Frederiksen, 1980). No entanto, outros estudos demonstraram a possibilidade de identificar raças de *P. sorghi* por diferenças na habilidade de esporulação em plantas de sorgo diferenciadoras, em que a interação incompatível entre raças de *P. sorghi* e genótipos de sorgo é caracterizada pela incapacidade do patógeno de esporular nas folhas inoculadas. Este método de diferenciação parece ser tão preciso quanto os métodos baseados na habilidade do fungo em induzir a fase sistêmica da doença, além de requerer um tempo menor (Craig & Frederiksen, 1983; Sifuentes & Frederiksen, 1988).

No Brasil, a raça de *Peronosclerospora sorghi* encontrada em 1982 foi diferenciada pela habilidade de induzir sintomas de infecção sistêmica na cultivar de sorgo BR501, antes resistente à doença (Fernandes & Schaffert, 1983). Apesar dos danos que a doença tem causado em muitas regiões brasileiras, este é o único relato sobre a variabilidade do patógeno no país.

#### **2.4 Resistência a fitopatógenos**

O trabalho com resistência a patógenos envolve dois sistemas que interagem: a patogenicidade (virulência – avirulência), dependente da constituição genética do patógeno e a reação (resistência – susceptibilidade), relacionada ao hospedeiro (Santos, 2003). A base desta interação foi elucidada no patossistema *Linum usitatissimum* – *Melampsora lini* e a teoria gene-a-gene estabelecida. De acordo com esta teoria, para cada gene de resistência no hospedeiro há um gene correspondente de avirulência no patógeno (Flor, 1942). Esta relação tem sido verificada ou sugerida para vários patossistemas (Thompson & Burdon, 1992). No modelo proposto para explicar a hipótese

gene-a-gene, patógenos produzem moléculas eliciadoras que são reconhecidas pelos receptores específicos nos hospedeiros. Quando uma célula receptora reconhece o eliciador do patógeno, uma resposta de defesa é ativada, a qual freqüentemente conduz à morte da célula infectada e inibição do patógeno. Ao contrário, quando não há o reconhecimento, tem-se a doença (Camargo, 1995).

Mutações nas populações do patógeno de avirulência para virulência conduzem à mudança ou falha na produção do eliciador, que causa o não reconhecimento pelo receptor do hospedeiro. A freqüência de mutantes virulentos aumenta, ocasionando “quebra” na resistência sob este modelo gene-a-gene (McDonald & Linde, 2002). No cultivo contínuo e prolongado do mesmo genótipo, a “quebra” de resistência genética se deve à evolução da população local do patógeno devido à seleção para mutantes, recombinantes ou migrantes, melhor adaptados a cultivar resistente (McDonald & Linde, 2002). O aumento da área de plantio com uma cultivar resistente a uma determinada doença exerce pressão de seleção na população do patógeno, no sentido de favorecer os indivíduos com virulência ao(s) gene(s) presente(s) nesta cultivar. Esse processo é conhecido como o ciclo “boom and bust” de geração de cultivares (Van der Plank, 1968).

A interação patógeno-hospedeiro explicada pelo sistema gene a gene, geralmente controlada por um gene, é amplamente conhecida como resistência vertical (Van der Plank, 1968) ou resistência específica a raças (Parlevliet, 1981). Resistência vertical é frequentemente chamada resistência de gene maior ou resistência específica à raça porque seus efeitos são grandes e efetivos apenas contra a porção da população do patógeno que produz o eliciador (McDonald & Linde, 2002).

A resistência que atua uniformemente contra todas as raças do patógeno é chamada resistência horizontal. Este tipo de resistência confere proteção incompleta e é determinada por mecanismos que dificultam o desenvolvimento

do patógeno nos tecidos do hospedeiro. Provavelmente, resistência vertical nunca ocorre desacompanhada de resistência horizontal (Van der Plank, 1968).

#### 2.4.1 Resistência em sorgo ao míldio

A resistência a *P. sorghi*, utilizada em programas de melhoramento de sorgo, expressa-se como uma incompatibilidade fisiológica entre hospedeiro e patógeno, a qual impede a infecção. Esse tipo de resistência é, na maioria das vezes, de herança oligogênica e foi utilizada após o aparecimento da doença no estado do Texas (EUA), em 1961 (Craig & Odvody, 1992).

Embora genótipos de sorgo resistentes ao míldio tenham sido identificados e usados com sucesso na produção de híbridos de sorgo resistentes, poucos estudos sobre a herança da resistência têm sido relatados (Craig & Schertz, 1985). Alguns resultados levaram à hipótese de que a linhagem de sorgo QL-3 (resistente às três raças identificadas no Texas) possui dois genes dominantes independentes condicionando resistência, enquanto a linhagem SC414-12 possui um gene dominante controlando a resistência às três raças, diferente dos genes condicionando resistência em QL3 (Craig & Schertz, 1985; Sifuentes & Frederiksen, 1988; Reddy, *et al.*, 1992). Em trabalho realizado anteriormente na Índia, concluiu-se que a resistência da cultivar QL3 era condicionada por 6 genes (Bhat, 1981). As divergências entre estes resultados podem ter sido determinadas, pelo menos em parte, pela utilização de diferentes metodologias e seleções de QL3. Assim também, por diferenças entre patótipos dos EUA e da Índia (Craig & Odvody, 1992).

Resistência quantitativa de natureza poligênica existe no germoplasma de sorgo e é, provavelmente, responsável por diferenças na incidência da doença entre cultivares de sorgo que não possuem nenhum tipo de resistência específica a *P. sorghi*. Há, entretanto, que se considerar a dificuldade de se identificar e

aumentar a frequência desses genes nos materiais selecionados em programas de melhoramento (Craig & Odvody, 1992).

A herança e os mecanismos de resistência permanecem mal entendidos e trabalhos adicionais são necessários para caracterizar estes aspectos de variedades resistentes (Jeger *et al.*, 1998). Marcadores genéticos ligados a genes de resistência do hospedeiro podem auxiliar na produção e desenvolvimento de cultivares de sorgo com resistência multigênica ao míldio. Tais marcadores podem ser úteis para entender o mecanismo de resistência ao míldio em cultivares de sorgo e também para clonagem de genes específicos de resistência (Bhavanishankara *et al.*, 1995).

Para a obtenção de híbridos de sorgo resistentes ao míldio, constantes avaliações no germoplasma de sorgo devem ser feitas, objetivando identificar fontes de resistência à doença. No Brasil, poucos foram os trabalhos já realizados para a identificação de fontes de resistência ao míldio (Gimenes-Fernandes, 1981; Gimenes-Fernandes *et al.*, 1984). O sucesso dos programas genéticos de melhoramento depende, em parte, da eficiência das técnicas de “screening”, ou seja, metodologias precisas e confiáveis para avaliações e detecções de fontes de resistência devem ser padronizadas.

#### **2.4.1.1 Identificação de fontes de resistência ao míldio**

Apesar da existência de alguns materiais resistentes à doença no mercado, a variabilidade apresentada pelo patógeno obriga os melhoristas e fitopatologistas a estarem constantemente descobrindo novas fontes de resistência, com o fim de controlar a doença. Em testes para identificação de fontes de resistência ao míldio, a inoculação de *P. sorghi* pode ser efetuada com oósporos e/ou conídios, no campo ou em casa de vegetação. Na maioria das vezes, testes realizados em campo são feitos utilizando-se inoculação com oósporos, principalmente em áreas onde essas estruturas são os mais importantes

componentes de epidemias. No Texas (EUA), avaliações são realizadas em áreas infestadas, nas quais cultivares susceptíveis são plantadas para manter altos níveis de inóculo no solo (Frederiksen, 1980). A inoculação conidial em campo geralmente ocorre quando fileiras de material susceptível inoculado são plantadas dias antes do material a ser testado, como garantia de inóculo conidial (Pande & Singh, 1992; Lima *et al.*, 1982). Na Índia, o International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics (ICRISAT) realiza avaliações em genótipos de sorgo usando combinação de fileiras disseminadoras e parcelas infestadas por oósporos (Pande *et al.*, 1997).

Testes realizados em casa de vegetação incluem inoculação conidial e de oósporos (Frederiksen, 1980). Em vários trabalhos foi demonstrada a possibilidade de se obter infecção sistêmica em hospedeiros susceptíveis, por meio da inoculação com oósporos (Borges, 1978; Craig, 1980; Gimenes-Fernandes, 1981; Craig, 1983), porém, não existe um método de inoculação confiável, que dê resultados consistentes, para a avaliação de germoplasma quando se utiliza este tipo de esporos. Técnicas de inoculação conidial têm sido mais adequadas devido à consistência na reprodução dos resultados (Frederiksen, 1980).

Diferentes técnicas de inoculação conidial para testes de resistência a *P. sorghi* em casa de vegetação têm sido usadas (Jones, 1970; Schmitt & Freytag, 1974; Craig, 1976; Williams *et al.*, 1982). Estas técnicas diferem em relação à idade das plantas na época de inoculação, nas partes das plantas inoculadas, no método de inoculação utilizado e nas condições de incubação após a inoculação. Avaliações de métodos diferentes de inoculação em casa de vegetação indicaram que o método de pulverização em plântulas de sorgo (apresentando uma folha com suspensão conidial ( $6 \times 10^5$  conídios/ml) é satisfatório e pode ser efetivamente usado para evitar escapes da doença e identificar fontes de resistência (Narayana *et al.*, 1995). Entretanto, outro método existente e

importante não só para esta finalidade mas também para identificação de raças, é o desenvolvido por Craig (1976), que consiste na montagem de uma câmara de inoculação artificial, onde um sistema de ar comprimido promove a disseminação dos conídios. As inoculações são feitas em plântulas de sorgo, com duas folhas, utilizando-se folhas infectadas. As avaliações são realizadas registrando a presença ou ausência de esporulação do patógeno.

As relações entre reações à inoculação de conídios e à infecção natural são complexas e não estão necessariamente correlacionadas já que os oósporos constituem inóculo inicial no solo (Yeh & Frederiksen, 1980). Cultivares de sorgo resistentes em campo podem se mostrar susceptíveis à inoculação de conídios em casa de vegetação (Yeh & Frederiksen, 1980). Diante disso, questiona-se o uso de testes de inoculação de conídios para avaliação de cultivares resistentes ao míldio (Kenneth & Shahor, 1973). No entanto, estudos mostram que reações à inoculação artificial concordam com resultados de avaliações de campo para resistência, utilizando-se inóculo natural (Craig, 1976; Gimenes-Fernandes *et al.*, 1984).

#### **2.4.1.2 Métodos de avaliação para resistência ao míldio**

Para comparar reações do hospedeiro é necessário desenvolver um efetivo método de avaliação (Williams, 1984). Em todos os métodos de inoculação, seja com oósporos ou com conídios, a avaliação tem sido feita contando-se o número de plantas com sintomas de infecção sistêmica, embora em outros trabalhos de inoculação com conídios, lesões locais tenham sido avaliadas (Craig, 1976; Yeh & Frederiksen, 1980).

Estudos indicaram um método para avaliação da resistência ao míldio em cultivares de sorgo, baseando-se no tipo das lesões locais resultantes da inoculação das plantas com conídios de *P. sorghi* (Gimenes-Fernandes *et al.*, 1984). Houve correlação entre a nota atribuída às lesões locais e à porcentagem

de plantas com sintomas de infecção sistêmica, aos 30 dias após a inoculação e entre as notas e a porcentagem de plantas com infecção sistêmica em ensaios de campo. Testes realizados com diferentes linhagens de milho indicaram que diferenças nos sintomas foliares devem ser devido a diferenças na susceptibilidade para infecção sistêmica. Assim, genótipos resistentes devem ser identificados pelas reações das folhas inoculadas e não somente pelos sintomas de infecção sistêmica. O grau de severidade dos sintomas foliares, após inoculação com conídios em casa de vegetação, foi positiva e significativamente correlacionado com susceptibilidade ao míldio em condições de campo (Craig, 1982). A avaliação da resistência ao míldio, em plântulas de sorgo, foi realizada mediante a habilidade das mesmas em permitir ou não a esporulação do fungo nas folhas inoculadas (Craig & Frederiksen, 1983).

### 3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARRUS, M.F. Variations of varieties of beans in their susceptibility to anthracnose. *Phytopathology*, v.1, p.190-195, 1911.

BHAT, M.G. Studies on inheritance of resistance to downy mildew *Peronosclerospora sorghi* (Weston and Uppal) Shaw in sorghum. 1981. 156p. (M.Sc. Thesis)-University of Agricultural Science, Bangalore, Índia.

BHAVANISHANKARA, G. et al. DNA markers for downy mildew resistance genes in sorghum. *Genome*, v.38, p.823-826, 1995.

BOCK, C.H.; JEGER, M.J. Downy mildew of sorghum. *International Sorghum and Millets Newsletter*, v.37, p.33-51, 1996.

BOCK, C.H.; JEGER, M.J. The distribution and spread of sorghum downy mildew in sorghum and maize fields in Nigeria and Zimbabwe. *European Journal of Plant Pathology*, v.108, n.8, p.745-753, 2002.



- BOCK, C.H. et al. The effect of wind on the dispersal of oospores of *Peronosclerospora sorghi* from systemically infected sorghum leaves. **Plant Pathology**, v.46, p.439-449, 1997.
- BOCK, C.H. et al. Production of conidia by *Peronosclerospora sorghi* on sorghum crops in Zimbabwe. **Plant Pathology**, v.47, p.243-251. 1998.
- BOCK, C.H. et al. Effect of dew point temperature and conidium age on germination, germ tube growth and infection of maize and sorghum by *Peronosclerospora sorghi*. **Mycological Research**, v.103, n.7, p.859-864, 1999.
- BOCK, C.H. et al. Control of sorghum downy mildew of maize and sorghum in Africa. **Tropical Science**, v.40, n.2, p.47-57, 2000a.
- BOCK, C.H. et al. Variability of *Peronosclerospora sorghi* isolates from different geographic locations and hosts in Africa. **Mycological Research**, v.104, n.1, p.61-68, 2000b.
- BONDE, M.R.; PETERSON, G.L.; DUCK, N.B. Effects of temperature on sporulation, conidial germination, and infection of maize by *Peronosclerospora sorghi* from different geographical areas. **Phytopathology**, v.75, p.122-126, 1985.
- BONDE, M.R. et al. Effect of temperature on conidial germination and systemic infection of maize by *Peronosclerospora* species. **Phytopathology**, v.82, p.104-109, 1992.
- BONDE, M.R.; SCHMITT, C.G.; DAPPER, R.W. Effects of dew-period temperature on germination of conidia and systemic infection of maize by *Sclerospora sorghi*. **Phytopathology**, v.68, p.219-222, 1978.
- BORGES, J.L. Efeito de três diferentes métodos de inoculação de oósporos de *Sclerospora sorghi* (Kulk.) Weston & Uppal em milho (*Zea mays* L.) e sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 1978. 23 p. (Trabalho de Graduação).
- BUTLER, E.J. Some diseases of cereals caused by *Sclerospora graminicola*. **Memoirs of the Department of Agriculture of India Botanical Series**, 2, p.1-24, 1907.
- CAMARGO, L.E.A. Análise genética da resistência e da patogenicidade. In.: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de**

**fitopatologia: princípios e conceitos.** São Paulo: Editora Agronômica Ceres Ltda, 1995. v.1. p.470-492.

CASELA, C.R. **Investigations on the variability of the sorghum anthracnose fungus *Colletotrichum graminicola*.** College Station, Texas: Texas A&M University. 1992. 166p. (Phylosophy Doctor in Plant Pathology).

CASELA, C.R. et al. Sorghum diseases in Brazil. In: LESLIE, J.F. (Ed.). **Sorghum and millets diseases.** Iowa: Iowa State, 2002. p. 379-382.

CASELA, C.R.; GUIMARÃES, F.B. Especialização fisiológica de fungos fitopatogênicos. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v.4. p. 75-93, 1996.

CHABRABARTY, S.K. et al. The quarantine procedures for sorghum downy mildew – a note on the past experience. **Indian Journal Plant Protection**, v.26, n.2, p.167-169, 1998.

COHEN, Y.; SHERMAN, Y. The role of airborne conidia in epiphytotics of *Sclerospora sorghi* on sweet corn. **Phytopathology**, v.67, p.515-521, 1977.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Estimativa da produção de grãos no Brasil.** Disponível em: <[www.conab.gov.br](http://www.conab.gov.br)> Acesso em: 14 fev. 2003.

CRAIG, J. An inoculation technique for identifying resistance to sorghum downy mildew. **Plant Disease Reporter**, v.60, p.350-352, 1976.

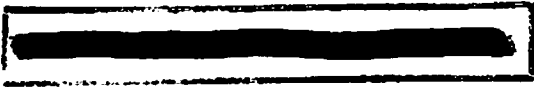
CRAIG, J. Comparative reaction of corn inbreds to oospore and conidial inoculum of *Peronosclerospora sorghi*. **Phytopathology**, v.70, p.313-315, 1980.

CRAIG, J. Identification of sorghum downy mildew resistance in corn by leaf reaction to conidial inoculum. **Phytopathology**, v.72, p.351-352, 1982.

CRAIG, J. Consistent infection of corn seedlings with oospores of *Peronosclerospora sorghi*. **Phytopathology**, v.73, p.1177-1179. 1983.

CRAIG, J. Sorghum downy mildew. In: FREDERIKSEN, R. A. (Ed.). **Compendium of sorghum diseases.** Saint Paul: American Phytopathological Society, 1986. p.39-40.

CRAIG, J.; FREDERIKSEN, R.A. Pathotypes of *Peronosclerospora sorghi*. **Plant Disease**, v.64, n.8, p.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.

CRAIG, J.; ODVODY, G.N. Current status of sorghum downy mildew control. In: DE MILLIANO, W. A. J.; FREDERIKSEN, R. A.; BERGSTON, G. D. (Ed.). **Sorghum and millet diseases: a second world review**. Patancheru, Índia: Internacional Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, 1992. p.213-217.

CRAIG, J. et al. Sorghum downy mildew loss assessment with near-isogenic sorghum populations. **Phytopathology**, v.79, p.448-451, 1989.

CRAIG, J.; SCHERTZ, K.F. Inheritance of resistance in sorghum to three pathotypes of *Peronosclerospora sorghi*. **Phytopathology**, v.75, p.1077-1078, 1985.

DICK, M.W. Sexual reproduction in the Peronosporomycetes (Chromistan fungi). **Canadian Journal of Botany**, v.73 (Supp 1), p.712-724, 1995.

DICK, M.W. **Straminipilous Fungi**. Dordrecht: Kluwer Academic, 2001. 670 p.

DICK, M.W. et al. 18S rDNA for species of *Leptolegnia* and other Peronosporomycetes: justification for the subclass taxa Saprolegniomycetidae and Peronosporomycetidae and division of the Saprolegniaceae *sensu lato* into the families Leptolegniaceae and Saprolegniaceae. **Mycological Research**, v.103, p.1119-1125, 1999.

FERNANDES, F.T. Mildio do sorgo *Sclerospora sorghi* (kulk) Weston e Uppal no Brasil. In: ENCONTRO NACIONAL DE FITOSSANITARISTA, 1., 1980, Campinas. **Anais...Campinas, CATI**, 1980. 200 p.

FERNÁNDEZ, L.D.; MECKENSTOCK, D.H. Virulencia de *Peronosclerospora sorghi* en Honduras. **CEIBA**, v.28, p.79-95, 1987.

FERNANDES, F.T.; SCHAFFERT, R.E. The reaction of several sorghum cultivars to a new race of sorghum downy mildew (*Peronosclerospora sorghi*) in southern Brazil in 1982-83. **Agronomy Abstracts**, v.27, p.63, 1983.

FLOR, H.H. Inheritance of pathogenicity in *Melampsora lini*. *Phytopathology*, v.32, p.653-668, 1942.

FREDERIKSEN, R.A. Sorghum downy mildew in the United States: Overview and Out look. *Plant Disease*, v.64, n.10, p.903-908, 1980.

FREDERIKSEN, R.A. et al. Distribution, symptoms and economic loss from downy mildew caused by *Sclerospora sorghi* in grain sorghum in Texas. *Plant Disease Reporter*, v.53, p.995-998, 1969.

FREDERIKSEN, R.A. et al. Sorghum downy mildew: a disease of maize and sorghum. Texas: Texas Agricultural Experimental Station, 1973. 32p. (Research monograph, 2).

FREDERIKSEN, R.A.; RENFRO, B.L. Global status of maize downy mildew. *Annual Review of Phytopathology*, v.15, p.249-275, 1977.

GIMENES FERNANDES, N. Método de avaliação e herança da resistência a *Peronosclerospora sorghi* (Weston & Uppal) C.G. Shaw em sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. 1981. 95 p. (Livre Decência)-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal.

GIMENES-FERNANDES, N.; FREDERIKSEN, R.A.; PENA, A.M. Avaliação da resistência ao mildio (*Peronosclerospora sorghi* (Weston & Uppal) C.G. Shaw) através da leitura das lesões foliares locais. *Summa Phytopathologica*, v.10, p.189-205, 1984.

GIMENES-FERNANDES, N.; NAKAMURA, K. Ocorrência do mildio em sorgo e milho no Estado de São Paulo. *Summa Phytopathologica*, v.3, p.71-74, 1977.

GUSTAFSSON, M.; LILJEROTH, E.; GUSTAFSSON, I. Pathogenic variation and sexual reproduction in Swedish populations of *Bremia lactucae*. *Theoretical and Applied Genetics*, v.70, p.643-49, 1985.

HULBERT, S.H.; MICHELMORE, R.W. DNA restriction fragment length polymorphism and somatic variation in the lettuce downy mildew fungus, *Bremia lactucae*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, v.1, p.17-24, 1988.

ILOTT, T.W.; DURGAN, M.E.; MICHELMORE, R.W. Genetics of virulence in California populations of *Bremia lactucae* (lettuce downy mildew). *Phytopathology*, v.77, p.1381-1386, 1987.

JEGER, M.J. et al. The epidemiology, variability and control of the downy mildews of pearl millet and sorghum, with particular reference to Africa. **Plant Pathology**, v.47, p.544-569, 1998.

JONES, B.L. A simple technique of inoculating sorghum with *Sclerospora sorghi* using conidia as inoculum. **Plant Disease Reporter**, v.54, p.603-604, 1970.

JONES, B.L. The mode of *Sclerospora sorghi* infection of sorghum bicolor leaves. **Phytopathology**, v.61, p.406-408, 1971.

KENNETH, R.G. The downy mildews of corn and other gramineae in Africa and Israel and the present state of knowledge and research. **Kasetsart Journal**, v.10, p.148-159, 1976.

KENNETH, R.; SHAHOR, G. Systemic infection in sorghum and corn by conidia of *Sclerospora sorghi*. **Phytoparasitica**, v.1, p.13-21, 1973.

KIRK, P.M. et al. **Dictionary of the fungi**. 9<sup>th</sup>.ed. Wallingford UK: CAB International, 2001. 655p.

KULKARNI, G.S. Observations on the downy mildew (*Sclerospora graminicola* (Sacc.) Schroet.) of bajri and jowar. **Memoirs of the Department of Agriculture of India Botanical Series**, v.5, p.268-273, 1913.

LIMA, M. et al. Introduction of maize (*Zea mays* L.) germoplasmas sources for downy mildew (*Peronosclerospora sorghi*) resistance. **Maydica**, v.27, p.159-168, 1982.

MAUNCH-MANI, B.; SCHWINN, F.J.; GUGGEHEIM, R. Early infection stages of the downy mildew fungi *Sclerospora graminicola* and *Peronosclerospora sorghi* in plants and cellcultures. **Mycological Research**, v.92, p.445-452, 1989.

MCDONALD, B.A.; LINDE, C. Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. **Annual Review of Phytopathology**, v.40, p.349-379, 2002.

MCDONALD, B.A. et al. The population biology of host-pathogen interactions. **Annual Review of Phytopathology**, v.27, p.77-94, 1989.

NARAYANA, Y.D.; BANDYOPADHYAY, R.; ANAHOSUR, K.H. Infection of *Peronosclerospora sorghi* at different growth stages of sorghum. **Indian Phytopathology**, v.55, n.2, p.203-205, 2002.

NARAYANA, Y.D.; MUGHOGHO, L.K.; BANDYOPADHYAY, R. Evaluation of greenhouse inoculation techniques to screen sorghum for resistance to downy mildew. **Euphytica**, v.86, p.49-53, 1995.

NIEDERHAUSER, J.S.; CERVANTES, J.; SERVIN, L. Late blight in Mexico and its implications. **Phytopathology**, v.44, p.406-408, 1954.

PANDE, S. et al. **Downy mildew of sorghum**. Patancheru, India: International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, 1997. 28p. (Information Bulletin, 51).

PANDE, S.; SINGH, S.D. Successful transfer of ICRISAT downy mildew resistance screening technology: an example of transfer of technology In: MILLIANO, W.A.J.; FREDERIKSEN, R.A.; BERGSTON, G.D. (Ed.). **Sorghum and millet diseases: a second world review**. Patancheru, India: International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, 1992. p.331-334.

PARLEVLIT, J.E. Disease resistance in plants and its consequences for plant breeding. In: FREY, J.K. **Plant breeding II**. Iowa State: The Iowa State University, 1981. p.309-364.

PAWAR, M.N. **Pathogenic variability and sexuality in *Peronosclerospora sorghi* (Weston and Uppal) Shaw, and comparative nuclear cytology of *Peronosclerospora* sp.** 1986. 107p. (Phylosophy Doctor in Plant Pathology)-Texas A&M University, College Station, Texas. 1986.

PAWAR, M.N. et al. Survey of the virulence of *Peronosclerospora sorghi* isolates from India, Ethiopia, Nigeria, Texas (USA), Honduras, Brazil and Argentina. **Phytopathology**, v.75, p.1374. 1985. (Abstract).

PAYAK, M.M. Downy mildew of maize in India. **Symposium on Downy Mildew of Maize**, Tokyo, p.13-18, 1975.

PINTO, N.F.J.de A. **Patologia de sementes de sorgo**. Sete Lagoas: EMBRAPA MILHO E SORGO, 1999. p.10. (Circular Técnica,32).

PRATT, R.G. Germination of oospores of *Sclerospora sorghi* in the presence of growing roots of host and nonhost plants. *Phytopatology*, v.68, p.1606-1613, 1978.

RAMALINGAM, A.; RAJASAB, A.H. Epidemiology of sorghum downy mildew VI. Relative importance of oospores and conidia in epidemics of systemic infection. *Proceedings of the Indian National Science Academy, Part B*, v.47, p.625-630, 1981.

REDDY, B.V.S. et al. Inheritance pattern of downy mildew resistance in advanced generations of sorghum. *Annals of Applied Biology*, v.121, p.249-255, 1992.

ROBINSON, R.A. Disease resistance terminology. *Review of Applied Mycology*, v.48, n. 11/12, p.593-606, 1969.

SAFEELULA, K.M. Infection of maize by downy mildews. *Symposium on downy mildew of maize*. Tóquio, p.93-101, 1975.

SAFEELULA, K.M.; SHETTY, H.S. Sorghum downy mildew in Asia: assessment of present knowledge and future research needs. In: *INTERNATIONAL WORKSHOP ON SORGHUM DISEASES, 1978, Hyderabad, Índia. Proceedings ... Hyderabad, Índia, ICRISAT*, p.173. 1978.

SAFEELULA, K.M.; THIRUMALACHAR, M.J. Gametogenesis and oospore formation in *Sclerospora* species on *Sorghum vulgare*. *Mycologia*, v.47, p.177-184, 1955.

SANTOS, J.B.dos. *Melhoramento de plantas visando resistência às doenças*. Lavras, UFLA/FAEPE, 2003. 72p.

SCHMITT, C.G.; FREYTAG, R.E. A quantitative technique for inoculating corn and sorghum with conidia *Sclerospora sorghi*. *Plant Disease Reporter*, v.58, p.825-829, 1974.

SCHMITT, C.G. et al. Comparison of some morphological characters of several corn downy mildew incitants. *Plant Disease Reporter*, v.63, p.621-625, 1979.

SCHUH, W.; FREDERIKSEN, R.A.; JEGER, M.J. Analysis of spatial patterns in sorghum downy mildew with Morisita's index of dispersion. *Phytopathology*, v.76, p.446-450; 1986.

SCHUH, W.; JEGER, M.J.; FREDERIKSEN, R.A. The influence of soil temperature, soil moisture, soil texture, and inoculum density on the incidence of sorghum downy mildew. *Phytopathology*, v.77, p.125-128, 1987a.

SCHUH, W.; JEGER, M.J.; FREDERIKSEN, R.A. The influence of soil environment on the incidence of sorghum downy mildew: A principal component analysis. *Phytopathology*, v.77, p.128-131, 1987b.

SCHUH, W.; JEGER, M.J.; FREDERIKSEN, R.A. Comparisons of spatial patterns of oospores of *Peronosclerospora sorghi* in the soil and of sorghum plants with systemic downy mildew. *Phytopathology*, v.78, p.432-434, 1988.

SETTY, T.A.S.; KUMAR, T.B.A.; GOWDA, K.T.P. Occurrence of sorghum downy mildew on maize and its epidemiology. *Current Research*, v.30, p.159-161, 2001.

SHAW, C.G. Interim reporter on taxonomy of graminicolous downy mildews attacking maize. *Kasetsart Journal*, v.10, p.85-88, 1976.

SHAW, C.G. *Peronosclerospora* species and other downy mildews of the gramineae. *Mycologia*, v.70, p.594-604, 1978.

SHAW, C.G.; WATERHOUSE, G.M. *Peronosclerospora* (Ito) Shirai and K. Hara antedates *Peronosclerospora* (Ito) C.G. Shaw. *Mycologia*, v.72, p.425-426, 1980.

SHAW, C.G. Taxonomy and evolution. In: SPENCER, D.N. (Ed.). *The downy mildews*. London, U.K.: Academic, 1981. p.18-29.

SHENOI, M.M.; RAMALINGAM, A. Epidemiology of sorghum downy mildew. I. Disease scales and spore production. *Indian Phytopathology*, v.29, p.273-277, 1976.

SHENOI, M.M.; RAMALINGAM, A. Epidemiology of sorghum downy mildew. II. Circadian and seasonal periodicities in conidia and oospores. *Proceedings of the Indian Academy of Sciences, Section B*, 88, p.95-102, 1979.

SHETTY, H.S.; SAFEEULLA, K.M. Effect of some environmental factors on the asexual phase of *Peronosclerospora sorghi*. *Proceedings of the Indian Academy of Sciences*, v.90, p.45-51, 1981. (Plant Sciences).



SIFUENTES, J.; FREDERIKSEN, R.A. Inheritance of resistance to pathotypes 1, 2, and 3 of *Peronosclerospora sorghi* in sorghum. **Plant Disease**, v.72, n.4, p.332-333, 1988.

SPENCER, M.A.; DICK, M.W. Aspects of graminicolous downy mildew biology: perspectives for tropical plant pathology and peronosporomycetes phylogeny. In: WATLING, R. et al. (Ed.). **Tropical mycology. Micromycetes**. Wallingford, UK. CAB International, 2002. v.2. p.63-81.

STAKMAN, E.C. **A study in cereal rusts: physiological races**. Minnesota: University of Minnesota Agricultural Experiment Station Technical, 1914. (Bulletin, 138).

THOMPSON, J.N.; BURDON, J.J. Gene-for-gene coevolution between plants and parasites. **Nature**, 360, p.121-125, 1992.

TULEEN, D.M.; FREDERIKSEN, R.A. Simulating yield losses in grain sorghum due to sorghum downy mildew. **Agronomy Journal**, v.73, p.983-987, 1981.

TULEEN, D.M.; FREDERIKSEN, R.A.; VUDHIVANICH, P. Cultural practices and the incidence of sorghum downy mildew in grain sorghum. **Phytopathology**, v.70, p.905-908; 1980.

VAN DER PLANK, J.E. **Disease Resistance in Plants**. New York, Academic, 1968. 206p.

VAN DER WESTHUIZEN, G.C.A Downy mildew fungi of maize and sorghum in South Africa. **Phytophylactica**, v.9, p.83-89, 1977.

VON PINHO, R.G.; VASCONCELOS, R.C. de **Cultura do sorgo** Lavras: UFLA/FAEPE, 2002. 76 p. 2002. (Textos Acadêmicos).

WANG, E.; RYLEY, M.; MEINKE, H. Prediction of sorghum downy mildew risk in Australia using daily weather data. **Australasian. Plant Pathology**, v.29, n.2, p.108-119, 2000.

WESTON, W.H.; UPPAL, B.N. The basis for *Sclerospora sorghi* as a species. **Phytopathology**, v.22, p.573-586, 1932.

WILLIAMS, R.J. Downy mildews of tropical cereals. In.: INGRAMS, D.S., WILLIAMS, P.H. (Ed.). **Advances in plant pathology**. London, UK: Academic. 1984. v.2. p.1-103.

WILLIAMS, R.J. et al. Identification of QL3 sorghum: a source of resistance to *Peronosclerospora sorghi*. **Plant Disease**, v.66, p.807-809, 1982.

YEH, Y.; FREDERIKSEN, R.A. Sorghum downy mildew: biology of systemic infection by conidia and of a resistant response in sorghum. **Phytopathology**, v.70, p.372-376, 1980.

## **CAPÍTULO 1**

### **IDENTIFICAÇÃO DE RAÇAS DE *PERONOSCLEROSPORA SORGHI*, AGENTE ETIOLÓGICO DO MÍLDIO DO SORGO, NO BRASIL**

## RESUMO

BARBOSA, Flávia Christiane Rufini. **Identificação de raças de *Peronosclerospora sorghi*, agente etiológico do mildio do sorgo, no Brasil.** 2004. Cap.1 p.30-67. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitopatologia)- Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.\*

Os objetivos deste trabalho foram verificar a ocorrência de raças de *Peronosclerospora sorghi* no Brasil, agente etiológico do mildio do sorgo, por meio da avaliação da virulência de isolados do patógeno em plantas hospedeiras diferenciadoras e estabelecer qual a melhor metodologia de inoculação artificial de conídios para testes de identificação de raças e de fontes de resistência. Os experimentos foram conduzidos na Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG. Foram utilizadas trinta linhagens de sorgo e 25 isolados do patógeno, obtidos das regiões Sul e Sudeste do Brasil, locais de cultivo do sorgo e ocorrência da doença. Duas metodologias de inoculação foram utilizadas: inoculação de conídios em sementes pré-germinadas e em plântulas. Utilizou-se como critério de avaliação a presença ou ausência de esporulação do patógeno nas plantas inoculadas após 15 e 10 dias, respectivamente. Alta variabilidade do patógeno foi verificada entre os 25 isolados nas duas metodologias de inoculação. O método de inoculação em sementes pré-germinadas se mostrou favorável para o processo infeccioso e a metodologia de inoculação em plântulas foi mais propícia para testes de identificação de raças, representando melhor a forma de infecção por conídios que ocorre no campo. De acordo com as reações diferenciais dos genótipos utilizando-se a inoculação em plântulas, os 25 isolados foram separados em 24 raças; apenas dois isolados apresentaram a mesma reação diferencial. A análise de agrupamento indicou ausência de diferenciação geográfica entre os isolados.

---

\*Comitê de orientação: Ludwig H. Pfenning – UFLA; Carlos Roberto Casela - Embrapa Milho e Sorgo.

## ABSTRACT

BARBOSA, Flávia Christiane Rufini. Identification of races of *Peronosclerospora sorghi*, the causal agent of sorghum downy mildew in Brazil. 2004. Cap.1 p.30-67. Dissertação (Master in Agronomy / Plant Pathology) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.\*

*Peronosclerospora sorghi* is the causal organism of the downy mildew of sorghum and is known in southern and south-eastern Brazil. These studies sought to verify the occurrence of races of *P. sorghi*, in Brazil and to develop an effective artificial inoculation method to enable diagnosis of pathogen races and the identification of possible sources of resistance. Experiments were performed at the research center EMBRAPA Milho e Sorgo in Sete Lagoas, MG, Brazil. The thirty sorghum genotypes and twenty-five pathogen isolates in this study were collected from areas in Southern and Southeastern Brazil. Two inoculation methods were tested: inoculation of conidia in pre-germinated seeds, read after 15 days; inoculation of conidia in seedlings, read after 10 days. Pathogenicity was assessed based on the presence or absence of sporulation in the inoculated plants. A high variability was recorded between the isolates tested with both of the inoculation methods used. Inoculation of pre-germinated seeds produced high infection rates but seedling inoculation was efficacious in identifying races presumably because it better represents the manner of conidial infection in natural conditions. Twenty-four pathogen races could be distinguished in these tests against the set of differential hosts used and only two isolates showed the same differential reaction. Cluster analysis applied to the data did not indicate any coherent geographical pattern of distribution among the twenty-five isolates.

--

---

\*Guidance committee: Ludwig H. Pfenning – UFLA; Carlos Roberto Casela - Embrapa Milho e Sorgo.

## 1 INTRODUÇÃO

Raças fisiológicas são populações de indivíduos fitopatógenos com características morfológicas semelhantes, embora com fisiologia distinta, exibindo variabilidade genética quanto à patogenicidade em diferentes cultivares do hospedeiro (Santos, 2003). O conhecimento e o estudo das raças de um patógeno são importantes para os programas de melhoramento de plantas. A partir do levantamento de raças é possível traçar estratégias para o desenvolvimento de um programa de melhoramento visando resistência a doenças ou estabelecer outras medidas de controle (Santos, 2003).

*Peronosclerospora sorghi* apresenta variabilidade patogênica, registrada em várias partes do mundo onde se cultiva sorgo (Craig & Frederiksen, 1983; Fernández & Meckenstock, 1987; Craig & Odvody, 1992; Pawar *et al.*, 1985; Pawar, 1986; de Milliano *et al.*, 1991; Bock *et al.*, 2000). No estado do Texas (USA), *Peronosclerospora sorghi* tem respondido à pressão de seleção exercida pelo cultivo de híbridos de sorgo resistentes e três raças já foram descritas (Craig & Frederiksen, 1980; Craig & Frederiksen, 1983).

No Brasil, poucas informações foram obtidas, até o momento, sobre a variabilidade desse patógeno. Em 1982, uma nova raça, diferente das três identificadas anteriormente no Texas, foi relatada no país. Esta nova raça, denominada raça 4, caracterizou-se pela patogenicidade à cultivar BR501, anteriormente resistente, que apresentou alta incidência de mildio na região de Palotina, no estado do Paraná (Fernandes & Schaffert, 1983). Este é o único relato sobre a variabilidade de *P. sorghi* no Brasil, apesar de algumas avaliações em genótipos de sorgo e milho para reação ao mildio (Benzoni Neto, 1981; Gimenes-Fernandes, 1981; Gimenes-Fernandes, *et al.*, 1984; Gimenes-Fernandes, *et al.*, 1980; Lima *et al.*, 1982).

Desde os anos 1980, a doença tem se disseminado no país e epidemias têm sido responsáveis por danos e perdas em muitas regiões produtoras de

sorgo, principalmente nas regiões Sul e Sudeste (Casela, comunicação pessoal). A disseminação da doença pelo Brasil reafirma a necessidade de estudos sobre a variabilidade patogênica de *P. sorghi* e o posterior desenvolvimento de cultivares resistentes como alternativa de manejo da doença (Casela *et al.*, 2002).

Em contribuição aos trabalhos de melhoramento e almejando estender os conhecimentos sobre a variabilidade patogênica de *Peronosclerospora sorghi* no Brasil, foram objetivos deste trabalho verificar a ocorrência de raças do patógeno no país, por meio da avaliação da virulência de isolados obtidos de áreas de plantio de sorgo, em plantas hospedeiras diferenciadoras, e avaliar qual a melhor metodologia de inoculação artificial de conídios para condução de testes de identificação de raças e de fontes de resistência.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação, no Centro Nacional de Pesquisa Milho e Sorgo (EMBRAPA), na cidade de Sete Lagoas, localizada na região central do estado de Minas Gerais.

### 2.1 Genótipos utilizados

Foram utilizadas 30 linhagens de sorgo, entre elas materiais diferenciadores de raças, como Tx430 (Craig & Frederiksen, 1983) e BR501 (Fernandes & Schaffert, 1983) (Tabela 1). Dentre os materiais, a cultivar SC283 foi utilizada como padrão de susceptibilidade; QL3 e SC170-6-17 como padrão de resistência (Frederiksen & Rosenow, 1979; Gimenes-Fernandes *et al.*, 1984; Pawar, 1986). Todas as sementes utilizadas neste trabalho foram disponibilizadas pelo Programa de Melhoramento Genético de Sorgo da Embrapa.

**TABELA 1: Linhagens de sorgo utilizadas para identificação de raças de *Peronosclerospora sorghi*\***

QL3	IS2508C	IS3800
Tx7078	IS6418C	IS6365
SC170-6-17	Tx412	IS7528
Tx2536	IS1032	IS8185
BR501	IS2219	IS8283
Tx430	IS2266	IS8607
SC283	IS3443	IS2217
BR005	IS3546	IS3547
CMSXS184	IS3657	IS2333
CMSXS226	IS14332	IS18757

\* Todas as linhagens são provenientes do Banco de Germoplasma da Embrapa Milho e Sorgo.

## 2.2 Obtenção dos isolados

Foram avaliados 25 isolados provenientes de diferentes regiões brasileiras produtoras de sorgo. Estes isolados foram obtidos mediante coleta de folhas em plantas de sorgo com infecção sistêmica, nos estados de São Paulo, Minas Gerais, Rio Grande do Sul e Paraná. Os locais amostrados foram: Casa Branca,SP, Paracatu e Sete Lagoas,MG, Pelotas,RS e Palotina,PR (Tabela 2).

As folhas coletadas foram desidratadas em condições naturais, permanecendo sobre folhas de jornal em local coberto por aproximadamente 7 dias. Quando secas, foram trituradas em um liquidificador para facilitar a liberação dos oósporos e o material obtido foi misturado superficialmente em solo esterilizado contido em vasos com cerca de 3 kg. Cerca de 100 sementes da cultivar de sorgo SC283 foram semeadas neste solo. O procedimento foi realizado separadamente para cada local amostrado e os vasos acondicionados em casa de vegetação. Sementes de SC283 também foram semeadas em solo esterilizado, sem material infectado, para controle de disseminação aérea de conídios e infestação do solo utilizado.



TABELA 2: Isolados coletados das regiões Sul e Sudeste do Brasil, utilizados para testes de identificação de raças.

Nº do isolado	Hospedeiro	Cidade	Estado	Coleta*
001	Sorgo – <i>Sorghum bicolor</i>	Sete Lagoas	MG	09/2001
002	Sorgo – <i>Sorghum bicolor</i>	Sete Lagoas	MG	09/2001
003	Sorgo – <i>Sorghum bicolor</i>	Sete Lagoas	MG	09/2001
004	Sorgo – <i>Sorghum bicolor</i>	Paracatu	MG	08/2002
005	Sorgo – <i>Sorghum bicolor</i>	Paracatu	MG	08/2002
006	Sorgo – <i>Sorghum bicolor</i>	Paracatu	MG	08/2002
007	Sorgo – <i>Sorghum bicolor</i>	Paracatu	MG	08/2002
008	Sorgo – <i>Sorghum bicolor</i>	Paracatu	MG	08/2002
009	Sorgo vassoura - <i>S. bicolor</i>	Casa Branca	SP	01/2003
010	Sorgo vassoura - <i>S. bicolor</i>	Casa Branca	SP	01/2003
013	Sorgo vassoura - <i>S. bicolor</i>	Casa Branca	SP	01/2003
014	<i>Sorghum verticilliflorum</i>	Casa Branca	SP	01/2003
015	<i>Sorghum verticilliflorum</i>	Casa Branca	SP	01/2003
016	<i>Sorghum verticilliflorum</i>	Casa Branca	SP	01/2003
019	Sorgo – <i>Sorghum bicolor</i>	Palotina	PR	03/2003
020	Sorgo – <i>Sorghum bicolor</i>	Palotina	PR	03/2003
021	Sorgo – <i>Sorghum bicolor</i>	Palotina	PR	03/2003
022	Sorgo – <i>Sorghum bicolor</i>	Palotina	PR	03/2003
023	Sorgo – <i>Sorghum bicolor</i>	Palotina	PR	03/2003
029	Sorgo- <i>S. bicolor</i> (var. BR501)	Sete Lagoas	MG	03/2003
030	Sorgo- <i>S. bicolor</i> (var. BR501)	Sete Lagoas	MG	03/2003
031	Sorgo- <i>S. bicolor</i> (var. BR501)	Sete Lagoas	MG	03/2003
032	Sorgo – <i>Sorghum bicolor</i>	Sete Lagoas	MG	03/2003
041	Sorgo - <i>S. bicolor</i> (SC283)	Sete Lagoas	MG	03/2003
043	Sorgo – <i>Sorghum bicolor</i>	Pelotas	RS	04/2003

\*Mês e ano da coleta.

Plantas com sintomas de infecção sistêmica foram observadas cerca de sete dias após a semeadura. Cada planta sistemicamente infectada foi considerada como resultado da infecção por um oósporo de *P. sorghi* e, portanto, como infectada por um único isolado do patógeno. Assim, o número de plantas infectadas em cada vaso representou o número de isolados obtidos de cada local (Casela & Ferreira, 2001). Quando as folhas infectadas atingiram tamanho mínimo para coleta de conídios (no máximo aos 15 dias após a semeadura para se evitar disseminação de conídios), iniciou-se a multiplicação dos isolados, de forma a ter quantidade suficiente de folhas de cada isolado para a condução dos testes.

### **2.3 Manutenção e produção de inóculo**

Os isolados de *P. sorghi* foram mantidos e multiplicados na cultivar de sorgo suscetível SC283. Utilizou-se a metodologia de inoculação em sementes pré-germinadas.

Sementes da cultivar SC283, previamente esterilizadas com hipoclorito de sódio a 0,5%, foram colocadas a germinar sobre papel de filtro umedecido, dentro de uma placa de Petri tampada e incubada em BOD por 48 horas, a 32°C e fotoperíodo de 12 horas. Decorrido este tempo, as sementes germinadas foram transferidas, com auxílio de uma pinça, para nova placa contendo papel de filtro umedecido (Figura 1a). Esta placa foi colocada destampada sobre um suporte de PVC dentro de uma jarra com 13 cm de diâmetro e 19 cm de altura (Figura 1b). Para manter úmido o ambiente dentro da jarra, colocou-se água em nível um pouco abaixo da placa. Sobre a abertura da jarra colocou-se uma tela sintética (Figura 1c). Sobre a tela, foram dispostos segmentos foliares lavados e infectados sistemicamente, com a face abaxial voltada para baixo (Figura 1d). Os segmentos foliares foram cobertos com 6 folhas de papel de germinação umedecidas e uma lâmina de plástico. Toda a estrutura foi amarrada com gomas

elásticas (Figura 1e). A câmara úmida assim formada foi deixada em uma sala a temperatura constante de 18°C por 16-18 horas, no escuro. Estes procedimentos foram realizados separadamente para cada isolado.

No dia anterior às inoculações para multiplicações dos isolados e para os testes experimentais, os vasos eram acondicionados em uma sala com iluminação constante, para estimular a produção de conídios (Schmitt & Freytag, 1974) (Figura 1f).

## **2.4 Inoculação**

Foram utilizadas duas metodologias de inoculação, descritas a seguir:

### **a. Inoculação de conídios em sementes pré-germinadas**

Sementes dos genótipos a serem avaliados, esterilizadas com hipoclorito de sódio 0,5%, foram postas a germinar sobre papel de filtro umedecido, dentro de placas de Petri tampadas e incubadas em BOD por 48 horas, a 32°C e fotoperíodo de 12 horas. Decorrido este tempo, as sementes germinadas foram transferidas, com auxílio de uma pinça, para outras placas contendo papel de filtro umedecido (Figura 1a). As placas foram colocadas destampadas sobre um suporte de PVC, dentro de jarras com 13 cm de diâmetro e 19 cm de altura e iniciou-se o processo para inoculação (Figura 1b). Para manter úmido o ambiente dentro das jarras, colocou-se água em nível um pouco abaixo da placa (a esporulação do patógeno só ocorre em condições de alta umidade relativa do ar). Sobre a abertura das jarras foram colocadas telas sintéticas (Figura 1c). Sobre as telas, foram dispostos segmentos foliares lavados e infectados sistemicamente com o isolado desejado (folhas coletadas da cultivar SC283, com idade de 21 a 28 dias), com a face abaxial voltada para baixo (Figura 1d). Os segmentos foliares foram cobertos com 6 folhas de papel de germinação umedecidas e uma lâmina de plástico. Todas as estruturas foram amarradas com gomas elásticas (Figura 1e). As câmaras úmidas assim formadas foram

aconditionadas em sala com temperatura constante a 18°C, por 16-18 horas, no escuro.

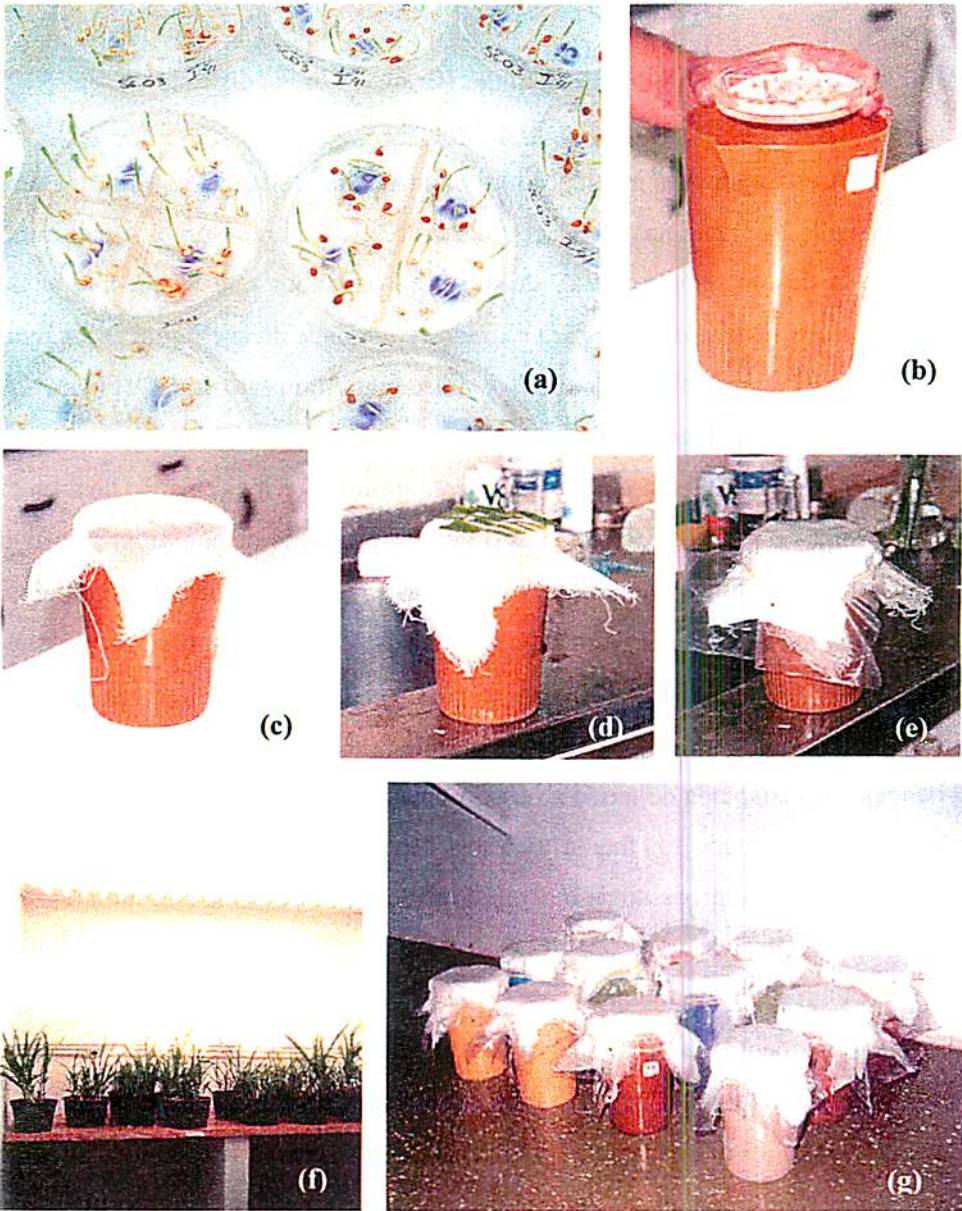
Após esse período, as câmaras foram desmontadas e, com o auxílio de uma pinça, realizou-se o plantio das sementes inoculadas em solo esterilizado contidos em copos plásticos (250ml), distribuídos em bandejas de plástico. O plantio foi realizado em casa de vegetação, onde as bandejas permaneceram até a data de avaliação. A rega foi realizada por capilaridade. Aproveitou-se o momento de inoculação de cada ensaio e realizou-se a multiplicação dos isolados.

Devido a limitações de espaço físico, em cada experimento foram trabalhados 15 genótipos e 3 isolados, num total de 45 tratamentos. Utilizou-se o delineamento experimental blocos ao acaso, com parcelas subdivididas e 2 repetições (3 sementes/copo/repetição). Além disso, os experimentos foram repetidos 3 vezes, no tempo, num total de 6 repetições. Dentro de cada placa, foram dispostos 4 genótipos diferentes (6 sementes/genótipo), devidamente separados (Figura 1a). Assim, para cada isolado, foram necessárias 4 jarras, totalizando 12 jarras/experimento (Figura 1g). O conjunto de 4 jarras e um isolado representou uma parcela e os genótipos dentro das jarras representaram as subparcelas. Considerando as repetições no tempo, para avaliar as reações dos 30 genótipos aos 25 isolados foram realizados 54 experimentos. Para a interpretação dos resultados realizou-se análise de cluster, tomando-se como base a matriz de distância euclidiana e o método de agrupamento UPGA (Unweighted Pair Group Average). Utilizou-se o programa estatístico SAS.

As multiplicações dos isolados foram programadas de acordo com os croquis e seqüências dos experimentos para que as inoculações não fossem interrompidas por falta de folhas infectadas.

As avaliações foram realizadas aos quinze dias após a inoculação, de acordo com a presença ou ausência de esporulação de *P. sorghi* na superfície

abaxial das folhas com sintomas iniciais de infecção sistêmica. As reações que resultaram em esporulação foram consideradas susceptíveis e denotadas como “S”. Aquelas que não resultaram em esporulação foram classificadas como resistentes e denotadas “R”. No dia anterior à avaliação, as plantas a serem avaliadas foram colocadas em câmara úmida para estimular a esporulação. As bandejas foram dispostas sob as mesas na casa de vegetação e totalmente cobertas com tecido encharcado e plástico. Assim permaneceram até a manhã do dia seguinte, quando procedeu-se a avaliação.



**FIGURA 1:** Seqüência do processo de inoculação em sementes pré-germinadas. (a) Sementes pré-germinadas dos genótipos a serem inoculados em placas de Petri; (b) Placas sendo colocadas dentro da jarra utilizada para a inoculação; (c) Tela sintética disposta sobre a abertura da jarra; (d) Segmentos foliares infectados dispostos sobre a tela; (e) Estrutura completa amarrada com gomas elásticas; (f) Sala de iluminação; (g) Experimento completo.

**b. Inoculação de conídios em plântulas (Craig, 1976, modificado)**

**Descrição da estrutura para inoculação**

A estrutura para inoculação foi montada aproveitando-se o sistema de ar comprimido existente nas instalações da Embrapa Milho e Sorgo. A estrutura é composta de um registro geral, de tubos galvanizados que recebem o ar dos compressores externos, filtro para retirada de umidade do ar (Figura 2a), válvula solenóide (Figura 2b), manômetro e filtro para limpeza do ar (Figura 2c), torneiras para regulagem de saída do ar e mangueiras, encaixadas nas torneiras (Figuras 2d). Há também um "timer", para permitir que a circulação de ar inicie 6 horas após o preparo das bandejas (início da produção de conídios) e desligue após 6 horas de funcionamento, o tempo suficiente para produção de conídios e ocorrência da infecção (Figura 2e). As bandejas de plástico utilizadas possuem dimensões de 56,4x38,5x20,1 cm e possuem 2 orifícios laterais, onde as mangueiras são inseridas, permitindo a entrada de ar (Figura 2f). A tampa das bandejas foi adaptada de modo a possuir uma abertura retangular em quase toda a sua extensão onde foi fixada uma tela de nylon. A disposição das bandejas preparadas para o processo de inoculação pode ser visualizada na Figura 2g.

**Obtenção do inóculo**


O inóculo consistiu de folhas infectadas com isolados do patógeno, coletadas da cultivar SC283. As folhas infectadas foram lavadas e cortadas em segmentos de aproximadamente 5 cm e dispostas sobre a tela de nylon fixadas nas tampas das bandejas (Figura 2h). Para cada bandeja foram necessárias aproximadamente 12 folhas e para um experimento completo foram utilizadas, aproximadamente, 36 folhas/isolado.

### Preparo do material vegetal e inoculação (preparo das bandejas)

Sementes dos genótipos a serem avaliados foram postas a germinar em placas de Petri, sobre papel de filtro umedecido, em BOD a 32<sup>o</sup>C, durante 48 horas. Após esse período, as sementes germinadas foram transplantadas para copos plásticos (100 ml) contendo solo esterilizado, dispostos nas bandejas de inoculação. O plantio das sementes germinadas foi realizado em casa de vegetação. Seis dias após o plantio (plântulas com duas folhas), as bandejas foram retiradas da casa de vegetação e iniciou-se o preparo para inoculação. Após completar o volume de água dentro das bandejas, estas foram tampadas e as folhas infectadas coletadas, lavadas, cortadas e dispostas sobre a tela de nylon com a superfície abaxial voltada para baixo. Sobre as folhas foram colocadas 3 camadas de papel de germinação umedecido e, sobre o papel, uma lâmina de plástico (Figura 2h). As bandejas montadas foram levadas imediatamente para a sala onde está instalado o sistema de inoculação para evitar perda de umidade. A temperatura da sala foi mantida constante a 18<sup>o</sup>C. Os papéis umedecidos e água no interior das bandejas garantiram a umidade para esporulação. O ar injetado promoveu a disseminação dos conídios sobre as plantas. Regulou-se o “timer” para o devido funcionamento do sistema. Após 6 horas de funcionamento, as câmaras úmidas foram desmontadas e acondicionadas novamente em casa de vegetação para avaliações.

Em cada bandeja foram dispostos 31 copos (30 genótipos a serem avaliados e a cultivar de sorgo, SC283, susceptível) (Figura 2i). O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso com parcelas subdivididas e 3 repetições. Cada parcela foi representada por uma bandeja inoculada por um isolado e as subparcelas foram representadas pelos genótipos dispostos aleatoriamente dentro das bandejas. Devido a limitações físicas e disponibilidade de bandejas adaptadas para inoculação, em cada experimento foram incluídos 30 genótipos e 3 isolados.





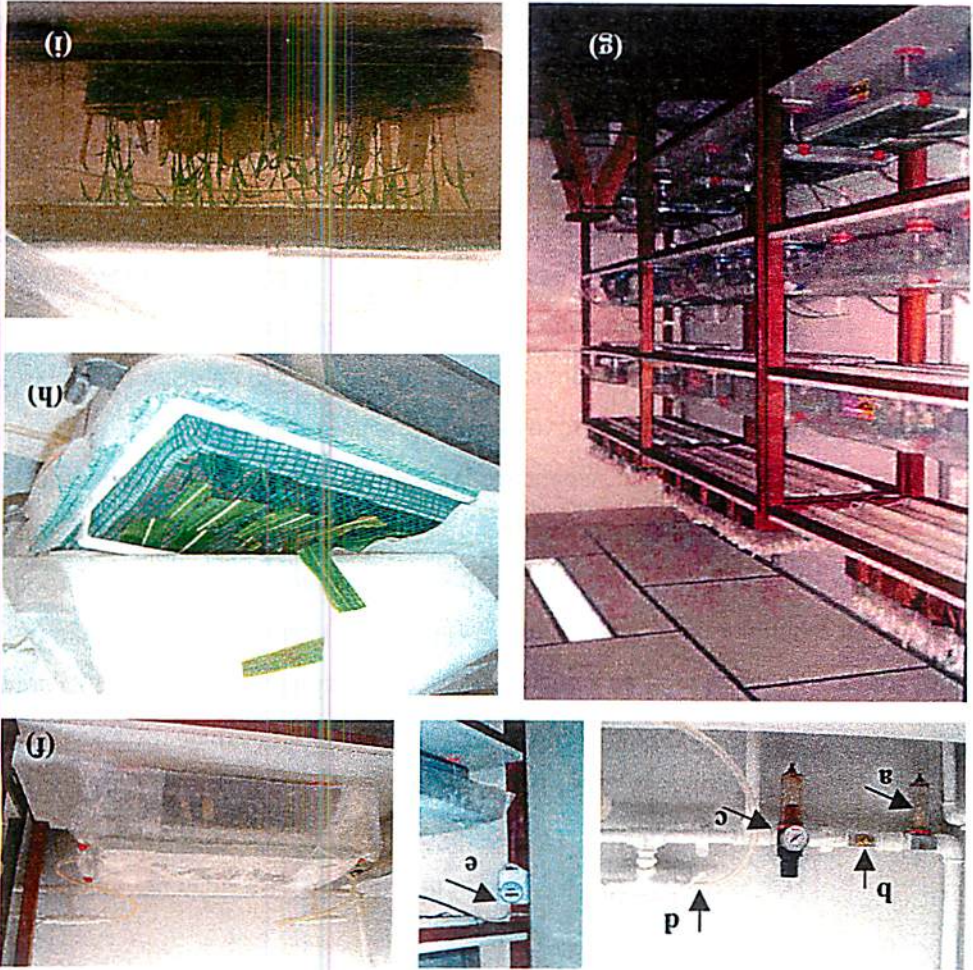
Para avaliar as reações dos 30 genótipos aos 25 isolados foram realizados 9 experimentos, sendo o último experimento com somente um isolado.

Para a interpretação dos resultados realizou-se análise de cluster, tomando-se como base a matriz de distância euclidiana e o método de agrupamento UPGA (Unweighted Pair Group Average). Utilizou-se o programa estatístico SAS.

### Avaliações

As avaliações foram realizadas 10 dias após a inoculação mediante ausência ou presença de esporulação do patógeno em lesões locais (Craig & Frederiksen, 1983). As reações que resultaram em esporulação foram consideradas susceptíveis e denotadas como “S”. Aquelas que não resultaram em esporulação foram classificadas como resistentes e denotadas “R”. No dia anterior à avaliação, câmaras úmidas foram montadas em casa de vegetação para uniformização da umidade do ar e garantia de esporulação em genótipos susceptíveis, conforme mencionado na outra metodologia utilizada neste trabalho.

FIGURA 2: Sistema de inoculação de condios em plantas. (a) Filtro para retirada de umidade do ar; (b) Válvula solenóide; (c) Manômetro e filtro para limpeza do ar; (d) Mangueiras encaixadas nas torneiras; (e) "Timer"; (f) Mangueiras encaixadas na bandeja pronta para a inoculação; (g) Experimento completo na sala de inoculação; (h) Segmentos foliares infectados dispostos sobre a tela, papel de germinação umedecido e plástico; (i) Visualização do material a ser inoculado dentro da bandeja.



### 3 RESULTADOS

#### **Inoculação em sementes pré-germinadas**

Os genótipos Tx7078, Tx2536, SC283, BR005, CMSXS226, Tx412, IS1032, IS2219, IS2266, IS3546, IS3657, IS14332, IS3800, IS2217 e IS2333 foram susceptíveis (“S”) e os genótipos CMSXS184 e IS3547 resistentes (“R”) a todos isolados testados. Dois isolados provenientes de Sete Lagoas (isolados 29 e 32) e o isolado de Pelotas (isolado 43) foram virulentos a um número maior de genótipos (25), quando comparado aos demais isolados. Ao contrário, o isolado 5, proveniente de Paracatu, foi virulento a apenas 17 genótipos. As reações dos 30 genótipos aos 25 isolados estão representadas na Tabela 3. Em algumas interações verificou-se a presença de infecção sistêmica, no entanto, até a data de avaliação não houve esporulação. Estas reações foram também consideradas resistentes pelo padrão de avaliação adotado e denotadas como “R\*”.

Os genótipos QL3, SC170-6-17, BR501, Tx430, IS2508C, IS6418C, IS3443, IS6365, IS7528, IS8185, IS8283, IS8607 e IS18757 apresentaram reações diferenciais. De acordo com essas reações, cada isolado se comportou como uma raça diferente (Tabela 4). Todas as reações de resistência de IS7528, IS8185 e IS8283 no método de inoculação em sementes foram acompanhadas de infecção sistêmica, no entanto, até a data de avaliação não foi verificada esporulação. Entre os genótipos que apresentaram reação de resistência, apenas IS3443 e IS3547 não apresentaram infecção sistêmica.

A análise de cluster indicou similaridade entre populações do patógeno geograficamente distantes (Figura 3). Considerando-se uma linha corte equivalente a uma distância média de 1.75, a análise indicou 9 grupos. Os isolados 20 (Palotina), 32 (Sete Lagoas) e 10 (Casa Branca), obtido de sorgo vassoura) foram representados separadamente nos grupos III, VI e IX, respectivamente. No grupo I estiveram 3 isolados de Sete Lagoas (isolados 41, 2

e 1), 3 de Palotina (19, 21 e 22) e 1 isolado de Casa Branca, obtido de sorgo vassoura (isolado 13). No grupo II estiveram os isolados 14 e 15, ambos de Casa Branca, obtido de *Sorghum verticilliflorum*. No grupo IV foram reunidos 3 isolados de Sete Lagoas (31, 30 e 29), o isolado proveniente de Pelotas (43) e o isolado 23, de Palotina. No grupo V, os isolados 16 (Casa Branca, obtido de *Sorghum verticilliflorum*) e 3 (Sete Lagoas). No grupo VII, estiveram 2 isolados de Paracatu (8 e 7), e um isolado de Casa Branca, obtido de sorgo vassoura (Isolado 9). O grupo VIII foi composto pelos isolados 5, 6 e 4, todos provenientes de Paracatu.

### **Inoculação em plântulas**

Os genótipos Tx2536, SC283, CMSXS226, Tx412 e IS1032 foram susceptíveis ("S") e os genótipos SC170-6-17, Tx430, CMSXS184, IS2508C, IS6418C, IS8185C, IS8283, IS8607 e IS3547 resistentes ("R") a todos os isolados. O isolado 30, proveniente de Sete Lagoas, foi virulento a um número maior de genótipos (17). Ao contrário, os isolados 7 e 8 (Paracatu), 23 (Palotina) e 29 (Sete Lagoas), foram virulentos a apenas 7 genótipos. As reações dos 30 genótipos aos 25 isolados estão representadas na Tabela 5.

Os isolados 4 e 41 apresentaram o mesmo comportamento. Os demais isolados se comportaram como raças diferentes. Estes comportamentos foram devido às reações diferenciais dos genótipos QL3, Tx7078, BR501, BR005, IS2219, IS2266, IS3443, IS3546, IS3657, IS14332, IS3800, IS6365, IS7528, IS2217, IS2333, IS18757 (Tabela 6). Os genótipos SC170-6-17, Tx430, IS2508C, IS6418C, IS8185, IS8283 e IS8607, que apresentaram reações diferenciais no método de inoculação em sementes, foram resistentes a todos os isolados pelo método de inoculação em plântulas.

A análise de cluster indicou também similaridade entre populações do patógeno geograficamente distantes (Figura 4). Considerando-se uma linha corte

de 1,75, a análise indicou 11 grupos. Os isolados 1 (Sete Lagoas), 13 (Casa Branca, obtido de sorgo vassoura), 14 e 15 (Casa Branca, obtidos de *Sorghum verticilliflorum* e 19 (Palotina) foram representados separadamente nos grupos I, V, VII, XI e X, respectivamente. No grupo II estiveram 2 isolados de Sete Lagoas (32 e 2). No grupo III, estiveram 4 isolados de Sete Lagoas (31, 30, 41, 3), o isolado 43 de Pelotas, o isolado 10 de Casa Branca, obtido de sorgo vassoura, o isolado 4 de Paracatu, que apresentou comportamento semelhante ao do 41 e o isolado 16, de Casa Branca, obtido de *Sorghum verticilliflorum*. No grupo IV, foram separados os isolados 5 e 6, ambos de Paracatu. No grupo VI, estiveram os isolados 21 de Palotina e o isolado 9 de Casa Branca, obtido de sorgo vassoura. No grupo VIII, os isolados 7 e 8, ambos de Paracatu. No grupo IX, estiveram 3 isolados de Palotina (23, 22 e 20) e um isolado de Sete Lagoas (29).

TABELA 3: Reações dos 30 genótipos de sorgo aos 25 isolados de *Peronosclerospora sorghi*, pelo método de inoculação em sementes pré-germinadas.

Genótipos	Isolados/Reação (1)																								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	13	14	15	16	19	20	21	22	23	29	30	31	32	41	43
QL3	S	S	S	R	R*	R*	R	R*	R	R	R*	S	S	S	R*	R*	R*	S	S	S	S	S	R*	S	S
Tx7078	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
SC170-6-17	R*	R*	R*	R*	R*	R*	R*	R*	R*	R*	R	R	R*	R*	R*	R*	R*	R	R	R*	R*	S	S	S	S
Tx2536	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
BR501	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R*	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Tx430	R*	R*	R*	R*	R*	R*	R*	R*	R*	R*	R*	R*	R*	R*	R*	R*	R*	R*	R*	R*	R*	R*	R*	R*	R*
SC283	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
BR005	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
CMSXS184	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R*	R	R	R	R	R	R	R*	R*	R*	R*	R*	R	R	R	R*
CMSXS226	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
IS2508C	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R*	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
IS6418C	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Tx412	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
IS1032	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
IS2219	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
IS2266	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
IS3443	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
IS3546	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
IS3657	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
IS14332	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
IS3800	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
IS6365	S	S	R	S	S	S	R	R*	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
IS7528	R*	R*	S	R*	S	S	R*	R*	R*	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

...continua...

TABELA 3, Cont.

Genótipo	Isolados/Reação <sup>(1)</sup>																									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	13	14	15	16	19	20	21	22	23	29	30	31	32	41	43	
IS8185	S	S	S	R*	R*	R*	R*	S	S	R*	S	S	S	S	S	R*	S	S	S	S	S	S	R*	S	S	S
IS8283	S	S	S	R*	R*	R*	R*	S	S	R*	S	S	S	S	S	R*	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
IS8607	S	S	S	R*	R*	R*	R*	S	S	R*	S	S	S	S	S	R*	S	S	S	S	S	S	R*	S	S	S
IS2217	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
IS3547	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
IS2333	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
IS18757	S	S	S	R*	R*	R*	R*	S	S	R*	S	S	S	S	S	R*	S	S	S	S	S	S	R*	S	S	S

<sup>(1)</sup> S: suscetível; R: resistente; R\*: presença de infecção sistêmica, mas ausência de esporulação.

**TABELA 4: Identificação de raças de *Peronosclerospora sorghi*, de acordo com as reações de 15 cultivares de sorgo diferenciadoras, pelo método de inoculação em sementes pré-germinadas.**

Genótipos	Isolados/Reação <sup>(1)</sup>																								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	13	14	15	16	19	20	21	22	23	29	30	31	32	41	43
QL3	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S
SC170-6-17	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	S
BR501	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Tx430	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S
IS2508C	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R
IS6418C	R	S	S	S	R	S	S	S	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	S	S	S	S	R	R	S
IS3443	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
IS6365	S	S	R	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
IS7528	R	R	S	R	R	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
IS8185	S	S	S	R	R	R	S	S	S	R	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
IS8283	S	S	S	R	R	R	R	S	S	R	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
IS8607	S	S	S	R	R	R	S	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	S	R	S	R	R	S	S	R
IS18757	S	S	R	R	R	R	S	R	S	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S
SC283	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
IS3547	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

<sup>(1)</sup> S: susceptível; R: resistente.



Dendrograma para 25 variáveis  
UPGA

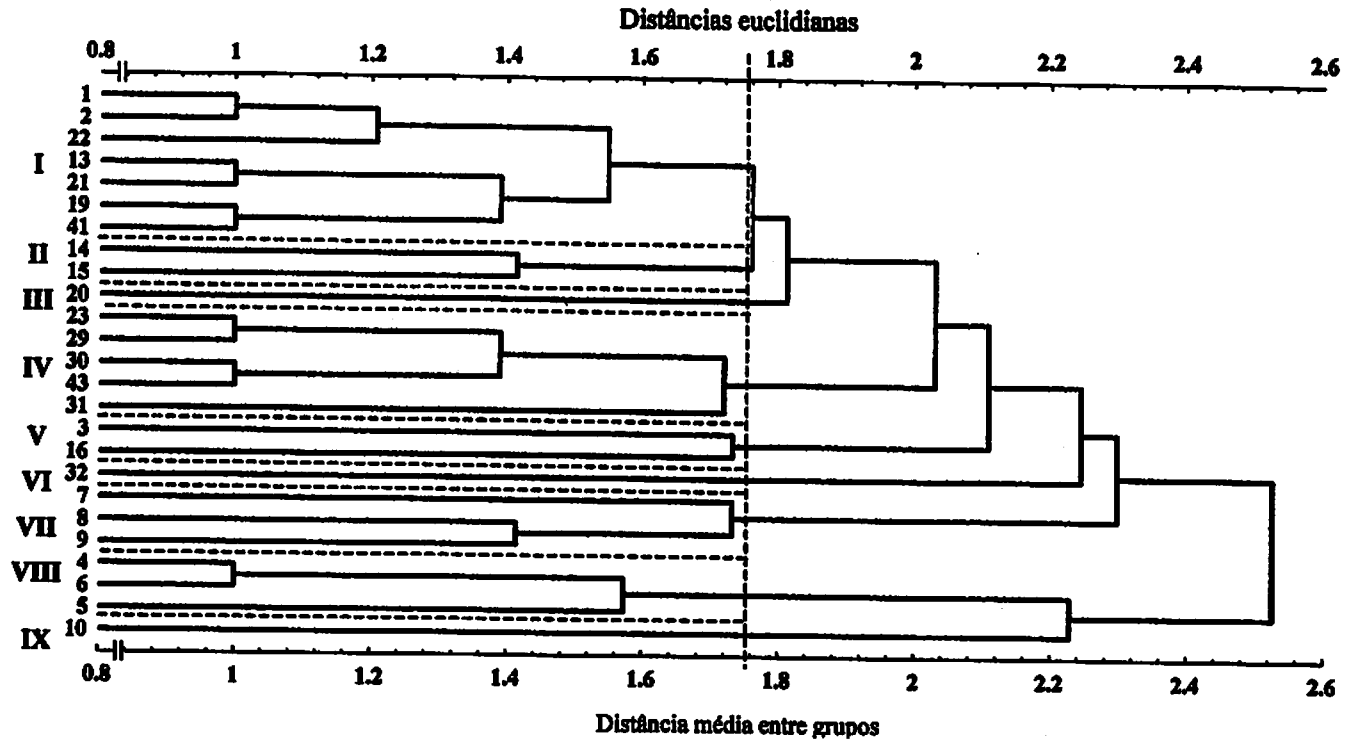


FIGURA 3: Dendrograma das distâncias entre os 25 isolados de *Peronosclerospora sorghi* de acordo com a virulência apresentada a 30 genótipos de sorgo, pelo método de inoculação em sementes pré-germinadas. Isolados 1, 2, 3, 29, 30, 31, 32 e 41: Sete Lagoas; 4, 5, 6, 7 e 8: Paracatu; 9, 10, 13, 14, 15 e 16: Casa Branca; 19, 20, 21, 22 e 23: Palotina; 43: Pelotas.

TABELA 5: Reações dos 30 genótipos de sorgo aos 25 isolados de *P. sorghi* pelo método de inoculação em plântulas.

Genótipos	Isolados/Reação <sup>(1)</sup>																								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	13	14	15	16	19	20	21	22	23	29	30	31	32	41	43
QL3	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R
Tx7078	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
SC170-6-17	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Tx2536	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
BR501	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	S	R	S	S	S	S	R	S
Tx430	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
SC283	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
BR005	R	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	S	R	R	R	S	S	S	S	S
CMSXS184	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
CMSXS226	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
IS2508C	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
IS6418C	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Tx412	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
IS1032	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
IS2219	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S	S	R	S	S	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S
IS2266	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	R	R	S	S	S	S	S
IS3443	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
IS3546	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S	S	R	S	R	R	S	R	R	R	S	S	S	S	S
IS3657	S	R	S	S	S	S	R	R	S	S	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	S	S	R	S	S
IS14332	S	S	R	S	S	R	R	R	S	S	S	S	R	S	R	R	S	R	R	R	S	S	R	S	S
IS3800	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S	S	S	R	S	S	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S
IS6365	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

...continua...

TABELA 5, Cont.

Genótipos	Isolados/Reação <sup>(1)</sup>																								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	13	14	15	16	19	20	21	22	23	29	30	31	32	41	43
IS7528	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
IS8185	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
IS8283	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
IS8607	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
IS2217	S	S	S	S	R	S	R	R	R	S	R	S	R	S	S	R	S	R	R	R	R	S	S	S	S
IS3547	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
IS2333	R	S	S	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S
IS18757	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

<sup>(1)</sup> S: Susceptível; R: resistente.

**TABELA 6: Identificação de raças de *Peronosclerospora sorghi*, de acordo com as reações de 18 cultivares de sorgo diferenciadoras, pelo método de inoculação em plântulas.**

Genótipo	Isolados/Reação <sup>(1)</sup>																								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	13	14	15	16	19	20	21	22	23	29	30	31	32	41	43
QL3	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R
Tx7078	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
BR501	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	S	R	S	S	S	S	R	S
BR005	R	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	S	R	R	R	S	S	S	S	S
IS2219	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S	S	R	S	S	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S
IS2266	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	R	R	S	S	S	S	S
IS3443	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
IS3546	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S	S	R	S	R	R	S	R	R	R	S	S	S	S	S
IS3657	S	R	S	S	S	S	R	R	S	S	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	S	S	R	S	S
IS14332	S	S	R	S	S	R	R	R	S	S	S	S	R	S	R	R	S	R	R	R	S	S	R	S	S
IS3800	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S	S	S	R	S	S	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S
IS6365	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
IS7528	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
IS2217	S	S	S	S	R	S	R	R	R	S	R	S	R	S	S	R	S	R	S	R	S	S	S	S	S
IS2333	R	S	S	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S

...continua...

TABELA 6, Cont.

Genótipo	Isolados/Reação <sup>(1)</sup>																									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	13	14	15	16	19	20	21	22	23	29	30	31	32	41	43	
IS18757	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
SC283	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
IS3547	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

<sup>(1)</sup> S: Susceptível; R: resistente.

Dendrograma para 25 variáveis  
UPGA  
Distâncias euclidianas

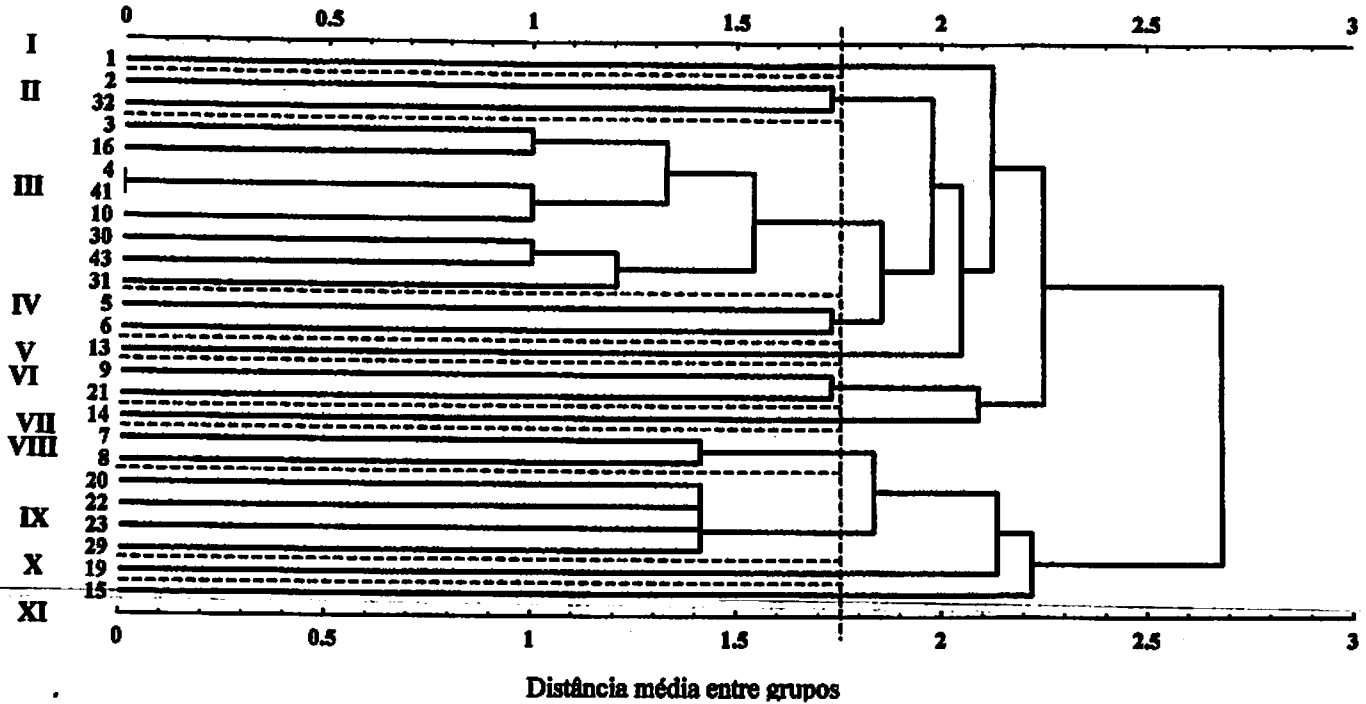


FIGURA 4: Dendrograma das distâncias entre os 25 isolados de *Peronosclerospora sorghi* de acordo com a virulência apresentada a 30 genótipos de sorgo, pelo método de inoculação em plântulas. Isolados 1, 2, 3, 29, 30, 31, 32 e 41: Sete Lagoas; 4, 5, 6, 7 e 8: Paracatu; 9, 10, 13, 14, 15 e 16: Casa Branca; 19, 20, 21, 22 e 23: Palotina; 43: Pelotas.

#### 4 DISCUSSÃO

Para a identificação da variabilidade patogênica, utiliza-se a categoria infra-específica de raça, sendo sua determinação somente possível com o uso de cultivares capazes de demonstrar fenotipicamente respostas diferenciadoras para resistência ou susceptibilidade a determinada doença (Santos, 2003). Raças verticais são populações do patógeno que podem ser diferenciadas por suas interações com cultivares, de uma mesma espécie do hospedeiro, que possuem resistência vertical (Robinson, 1969). A variabilidade patogênica tem sido relatada em populações de *P. sorghi* (Craig & Frederiksen, 1983; Fernandes & Schaffert, 1983; Fernández & Meckenstock, 1987; Craig & Odvody, 1992; Pawar *et al.*, 1985; Pawar, 1986; de Milliano *et al.* 1991; Bock *et al.*, 2000). Os resultados obtidos neste trabalho também concordam com esses resultados e evidenciaram a existência de variabilidade patogênica em populações de *P. sorghi* do Brasil.

Os dois métodos de inoculação utilizados para a identificação de raças apresentaram resultados diferentes, embora ambos tenham demonstrado a existência de alta variabilidade do patógeno nas condições brasileiras. As diferenças observadas podem estar relacionadas, pelo menos em parte, à idade da planta na época de inoculação. A inoculação em sementes pré-germinadas pode ter favorecido o processo infeccioso, pois foi feita diretamente na radícula, uma condição artificial, que provavelmente não ocorre no campo. Isto condiz com resultados de outros trabalhos, segundo os quais a inoculação de conídios em sementes pré-germinadas não é natural e não deve ser utilizada para identificar resistência (Pawar, 1986; Narayana *et al.*, 1995).

Aparentemente, o método de inoculação em sementes foi mais drástico em relação ao método de inoculação em plântulas, por exemplo, o limite de menor valor de virulência no teste de inoculação em sementes (17 genótipos infectados pelo isolado 5) foi igual ao maior valor obtido pelo isolado 30 no

teste de inoculação em plântulas. No método de inoculação em sementes pré-germinadas, 50% dos genótipos avaliados foram susceptíveis a todos os isolados, enquanto no método de inoculação em plântulas, apenas 17% o foram. Possivelmente, o método de inoculação idealizado por Craig (1976), no qual a inoculação de conídios é feita em plântulas, se aproxima mais da disseminação natural que ocorre no campo (Craig, 1976; Craig & Frederiksen, 1983). Em relação à inoculação de conídios em plântulas para identificação de raças, alguns trabalhos sugerem pulverizações com concentrações conhecidas de inóculo (Pawar, 1986; Narayana *et al.*, 1995; Bock *et al.*, 2000). No entanto, como vantagens da técnica de Craig (1976) pode-se citar que não são necessários cuidados adicionais com os conídios, os quais são bastante frágeis e apresentam vida útil curta, e que também a técnica reduz a ocorrência de escapes, devido à eficiente disseminação dos conídios pelo fluxo de ar existente na câmara de inoculação.

Considerando os resultados da inoculação em plântulas, pode-se dizer que a população de *P. sorghi* existente no Brasil, e avaliada neste trabalho, difere da relatada no Texas. A raça 3 presente no Texas foi identificada pela esporulação diferencial na cultivar Tx430 (Craig & Frederiksen, 1983), o que não ocorreu em nenhuma interação genótipo-isolado avaliada neste trabalho. Apesar da esporulação dos isolados 29, 30, 31, 32, 41 (Sete Lagoas), 19 e 23 (Palotina), e 43 (Pelotas) ocorrida neste genótipo mediante inoculação em sementes pré-germinadas, levou-se em consideração novamente a drasticidade do processo de inoculação. Considerações semelhantes foram feitas em outros estudos. A drasticidade do método de inoculação de conídios em sementes pré-germinadas pode mascarar a resistência de Tx430 e outros genótipos à raça 1, no Texas (Pawar, 1986).

Atenção deve ser despendida à identificação da raça 4 com base na reação diferencial da cultivar BR501 em Palotina (Fernandes & Schaffert, 1983).



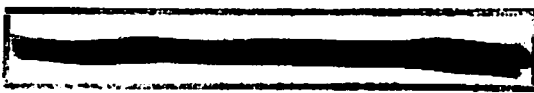
Seis isolados de Sete Lagoas (1, 2, 29, 30, 31 e 32), 3 obtidos da população de Palotina (19, 20 e 22) e o de Pelotas (43) foram virulentos a BR501, no método de inoculação em plântulas. Nenhum dos isolados de Paracatu e Casa Branca foram virulentos à variedade citada. Apesar destes resultados, não há como sugerir que os isolados de Sete Lagoas e Palotina ou algum deles seja especificamente a raça 4, relatada por Fernandes & Schaffert (1983). Os isolados de Sete Lagoas diferiram entre si pela virulência a outros genótipos e o mesmo comportamento foi verificado para os isolados de Palotina. No trabalho de Fernandes & Schaffert (1983), a identificação da raça 4 foi feita mediante avaliação de sintomas de infecção sistêmica no campo, não tendo sido obtidas populações coletadas no hospedeiro e testadas em condições controladas de casa de vegetação. É possível que, no local de ocorrência da epidemia em Palotina, a “raça 4” fosse constituída, na realidade, por um grupo de isolados virulentos a BR501 e que, provavelmente possuíam diferenças entre si com relação à virulência a outros genótipos. Deve-se considerar que avaliação de infecção sistêmica em campo infere avaliação de resistência do genótipo e não variabilidade do patógeno, pois as condições não são controladas. Em resumo, o estudo da variabilidade patogênica quando não se dispõe de uma série diferencial estabelecida, exige grande número de genótipos, condições controladas em casa de vegetação e obtenção de vários isolados da população do patógeno (Santos, 2003).

Além de Tx430, os genótipos Tx412 e CS3541 têm sido utilizados para diferenciação de raças de *P. sorghi* no Texas (Craig & Frederiksen, 1980; 1983). Um número maior de genótipos e isolados provenientes da América do Norte (Texas), América Central (Honduras), América do Sul (Brasil), África (Nigéria e Etiópia) e Ásia foram utilizados para estudos da variabilidade do patógeno (Pawar *et al.*, 1985; Pawar, 1986). Os genótipos que apresentaram reações diferenciais aos dois métodos de inoculação neste trabalho foram: QL3, BR501,

IS3443, IS6365, IS7528 e IS18757. Os genótipos SC170-6-17, Tx430, IS8185, diferenciadores apenas no método de inoculação em sementes, os genótipos TX7078, IS2266 e IS2333 apenas no método de inoculação em plântulas e o genótipo BR501, com reações diferenciais nos dois métodos, apresentaram comportamento diferencial também nos estudos conduzidos por Pawar (1986). Outros genótipos avaliados pelo autor apresentaram reações diferenciais, mas não foram incluídos neste trabalho.

É necessário estabelecer uma série diferencial, que possa ser padronizada e utilizada futuramente em trabalhos de monitoramento de raças de *P. sorghi*. Para isso, deve-se levar em consideração o método de inoculação a ser utilizado. Os resultados obtidos mediante inoculação em sementes pré-germinadas, em que o patógeno consegue infectar o hospedeiro (infecção sistêmica), mas não completa seu ciclo na planta, indicam a possível existência de algum tipo de resistência capaz de retardar o ciclo do patógeno no hospedeiro, que poderia ser uma forma de resistência horizontal. Há fortes indicações de que resistência horizontal ao míldio exista em sorgo (Frederiksen *et al.*, 1973). Diferenças na intensidade de esporulação entre genótipos não foram mencionadas e nem quantificadas neste trabalho, mas foram verificadas durante as avaliações. Também foram notadas diferenças na densidade de esporulação em combinações compatíveis hospedeiro-patógeno por Craig & Frederiksen (1983).

A variabilidade verificada foi maior do que a já relatada para *P. sorghi*. No método de inoculação em sementes, cada isolado se comportou como uma raça diferente. No método de inoculação em plântulas, 2 isolados apresentaram comportamento semelhante, evidenciando a existência de 24 raças diferentes. A alta variabilidade encontrada tem o respaldo das pesquisas desenvolvidas por Pawar *et al.* (1985) e Pawar (1986). Dezesesseis isolados de *Peronosclerospora sorghi* foram avaliados para virulência em 75 cultivares de sorgo usando um



CRUTE, I.R. From breeding to cloning (and back again?): a case study with lettuce downy mildew. *Annual Review of Phytopathology*, v.30, p.485-506, 1992.

DE MILLLIANO, W.A.J. et al. Possible differences in sorghum downy mildew pathotypes between southern Africa and the Americas and between sites in southern Africa. *Sorghum Newsletter*, v.32, p.37, 1991.

FERNÁNDEZ, L.D.; MECKENSTOCK, D.H. Virulencia de *Peronosclerospora sorghi* en Honduras. *CEIBA*, v.28, p.79-95, 1987.

FERNANDES, F.T.; SCHAFFERT, R.E. The reaction of several sorghum cultivars to a new race of sorghum downy mildew (*Peronosclerospora sorghi*) in southern Brazil in 1982-83. *Agronomy Abstracts*, v.27, p.63, 1983.

FREDERIKSEN, R.A. et al. Sorghum downy mildew: a disease of maize and sorghum. Texas: Texas Agricultural Experimental Station, 1973. 32p. (Research Monograph, 2).

FREDERIKSEN, R.A.; ROSENOW, D.T. Breeding for diseases resistance in sorghum. In: \_\_\_\_\_. **Biology and breeding for resistance to arthropods and pathogens in agricultural plants**. College Station, Texas: Texas A & M University, 1979. p.137-167.

GIMENES-FERNANDES, N. Método de avaliação e herança da resistência a *Peronosclerospora sorghi* (Weston & Uppal) C.G. Shaw em sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. 1981. 95 p. (Livro Docência)-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal.

GIMENES-FERNANDES, N.; FREDERIKSEN, R.A.; PENA, A.M. Avaliação da resistência ao mildio (*Peronosclerospora sorghi* (Weston & Uppal) C.G. Shaw) através da leitura das lesões foliares locais. *Summa Phytopathologica*, v.10, p.189-205, 1984.

GIMENES-FERNANDES, N. et al. Comportamento de materiais comerciais de milho em relação ao mildio *Peronosclerospora sorghi* (Weston & Uppal) C.G. Shaw). *Summa Phytopathologica*, v.6, p.7-8, 1980.

GOODWIN, S.B. et al. Direct detection of gene flow and probable sexual reproduction of *Phytophthora infestans* in Northern America. *Phytopathology*, v.85, p.473-479, 1995.

JEGER, M.J. et al. The epidemiology, variability and control of the downy mildews of pearl millet and sorghum, with particular reference to Africa. **Plant Pathology**, v.47, p.544-569, 1998.

LIMA, M. et al. Introduction of maize (*Zea mays* L.) germoplasmas sources for downy mildew (*Peronosclerospora sorghi*) resistance. **Maydica**, v. 27, p.159-168 1982.

McDONALD, B.A.; LINDE, C. Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. **Annual Review of Phytopathology**, v.40, p.349-379, 2002.

McDONALD, B.A. et al. The population biology of host-pathogen interactions. **Annual Review of Phytopathology**, v.27, p.77-94, 1989.

NARAYANA, Y.D. et al. Evaluation of greenhouse inoculation techniques to screen sorghum for resistance to downy mildew. **Euphytica**, v.86, p.49-53, 1995.

PAWAR, M.N. **Pathogenic variability and sexuality in *Peronosclerospora sorghi* (Weston and Uppal) Shaw, and comparative nuclear cytology of *Peronosclerospora* sp.** College Station, Texas. 107p. (Phylosophy Doctor in Plant Pathology) - Texas A&M University. 1986.

PAWAR, M.N. et al. Survey of the virulence of *Peronosclerospora sorghi* isolates from India, Ethiopia, Nigeria, Texas (USA), Honduras, Brazil and Argentina. (Abstract). **Phytopathology**, v.75, p.1374, 1985.

ROBINSON, R.A. Disease resistance terminology. **Review of Applied Mycology**, v.48, ns.11-12, p.593-606, 1969.

SANTOS, J.B.dos. **Melhoramento de plantas visando resistência à doenças.** Lavras: UFLA/FAEPE, 2003. 72p.

SCHMITT, C.G.; FREYTAG, R.E. A quantitative technique for inoculating corn and sorghum with conidia *Sclerospora sorghi*. **Plant Disease Reporter**, v.58, p.825-829, 1974.

THAKUR, R.P. et al. Genetic resistance of pearl millet male-sterile lines to diverse Indian pathotypes of *Sclerospora graminicola*. **Plant Disease**, v.85, p.621-626, 2001.

## **CAPÍTULO 2**

### **IDENTIFICAÇÃO DE FONTES DE RESISTÊNCIA AO MÍLDIO DO SORGO (*Peronosclerospora sorghi*)**

## RESUMO

BARBOSA, Flávia Christiane Rufini. Identificação de fontes de resistência ao míldio do sorgo (*Peronosclerospora sorghi*). 2004. Cap.2, p.68-89. Dissertação (Mestrado em Agronomia / Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.\*

O objetivo deste trabalho foi identificar novas fontes de resistência ao míldio do sorgo (*Peronosclerospora sorghi*) no Brasil, visando a sua utilização em programas de melhoramento para resistência a esta doença. Quarenta e dois genótipos de sorgo, entre eles linhagens e híbridos da Embrapa Milho e Sorgo, foram avaliados em campo, sob condições de infecção natural, para reação ao míldio, com base na porcentagem de plantas com infecção sistêmica. Os experimentos foram conduzidos em dois locais distintos dentro da área experimental da Embrapa Milho e Sorgo. Os mesmos genótipos foram avaliados em casa de vegetação para reação a 10 isolados de *P. sorghi* obtidos em áreas de ocorrência da doença no Brasil, previamente caracterizados cada qual como uma raça diferente. Utilizou-se, no teste conduzido em casa de vegetação, a metodologia de inoculação de conídios em plântulas e as avaliações foram realizadas de acordo com a presença ou ausência de esporulação do patógeno, 10 dias após a inoculação. Os genótipos CMSXS156B, CMSXS157B, CMSXS234B, TxARG-1B, 9910032, 9910296, Tx430, QL3 e SC170-6-17 foram resistentes em campo e casa de vegetação e são prováveis fontes de resistência ao míldio do sorgo no Brasil. Todos os genótipos resistentes em casa de vegetação foram resistentes também em campo. Por outro lado, alguns genótipos resistentes em campo apresentaram reação de susceptibilidade em casa de vegetação. Todos os materiais susceptíveis em campo, com um mínimo de 20% de infecção, apresentaram o mesmo comportamento em casa de vegetação. Houve indicação da existência de variabilidade genética na população do patógeno presente em Sete Lagoas, pela ocorrência de reação de susceptibilidade na cultivar BR501 em um local de avaliação e de resistência em outro local.

---

\* Comitê de orientação: Ludwig H. Pfenning – UFLA; Carlos Roberto Casela – Embrapa Milho e Sorgo.

## ABSTRACT

BARBOSA, Flávia Christiane Rufini. Identification of sources of resistance to sorghum downy mildew (*Peronosclerospora sorghi*). 2004. Cap. 2, p. 68-89. Dissertation (Master in Agronomy / Plant Pathology) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.\*

The objective of this work was to identify new sources of resistance to sorghum downy mildew (*Peronosclerospora sorghi*) in order to provide new material for breeding programs aimed at the development of new resistant cultivars. The experiments were performed in the experimental area and greenhouse facilities of the research center EMBRAPA Milho e Sorgo at Sete Lagoas, MG. Forty-two sorghum genotypes were evaluated in the field in two distant areas to see their reaction to the disease under natural conditions. The evaluation was made based on the percentage of systemically infected plants. The same genotypes were also tested in the greenhouse, to evaluate their reactions to 10 isolates of *P. sorghi*, previously characterized as different races of the pathogen. In this experiment seedlings were inoculated with conidia and pathogenicity was assessed based on the presence or absence of sporulation in the inoculated plants after 10 days. The host genotypes CMSXS156B, CMSXS157B, CMSXS234B, TxARG-1B, 9910032, 9910296, Tx430, QL3 and SC170-6-17 were resistant in both field and greenhouse tests and can therefore be considered as sources of resistance that could be used in breeding programs for downy mildew resistance. All host genotypes tested, that were resistant in the greenhouse were also resistant in the field. On the other hand, some genotypes resistant in the field showed susceptibility to the same pathogen race in greenhouse tests. Finally, all genotypes that were susceptible in the field with more than 20% systemic infection were also highly susceptible in the greenhouse. Evidence of pathogen race distribution within the EMBRAPA station at Sete Lagoas could be seen in the emergence of disease in cultivar BR501 in one area while no systemic infection of this cultivar could be detected in another.

---

\*Guidance committee: Ludwig H. Pfenning – UFLA; Carlos Roberto Casela - Embrapa Milho e Sorgo.

## 1 INTRODUÇÃO

O míldio do sorgo, causado por *Peronosclerospora sorghi*, pode ocasionar perdas significativas à produção de sorgo em áreas e anos favoráveis à sua ocorrência e em cultivares de alta susceptibilidade (Casela & Ferreira, 2001). No Brasil, o míldio, antes restrito aos estados da região Sul, tem ocorrido também nos estados da região Sudeste do país e, mais recentemente nos estados da região Centro-Oeste (Casela & Ferreira, 2001). Na região Sudeste a doença foi observada com alta incidência e severidade, causando perdas significativas em lavouras de produção de sementes. Os prejuízos para produtores de sementes podem ser grandes pois, de acordo com as normas do Ministério da Agricultura, a presença de uma planta com míldio sistêmico em um campo de produção de sementes de sorgo é suficiente para que ele seja condenado.

A utilização da resistência genética é a estratégia mais eficiente para o controle da doença (Frederiksen & Renfro, 1977; Gimenes-Fernandes *et al.*, 1984). No entanto, a variabilidade apresentada por *P. sorghi* representa um problema para o desenvolvimento de cultivares de sorgo resistentes a este patógeno (Casela *et al.*, 2002). Devido a esta variabilidade, os programas de melhoramento de sorgo têm procurado diversificar as fontes de resistência, a fim de reduzir a vulnerabilidade da cultura à doença (Craig, 1980). Estudos sobre a variabilidade apresentada pelo patógeno no Brasil são escassos. Entretanto, os resultados obtidos no capítulo 2, referente à identificação de raças do patógeno, revelam a alta variabilidade apresentada por *P. sorghi*. Um dos maiores desafios para fitopatologistas e melhoristas é obter cultivares com resistência genética estável e durável a patógenos altamente variáveis (Pawar, 1986).

Para identificar fontes de resistência ao míldio, as inoculações podem ser efetuadas com oósporos e/ou conídios, no campo ou em condições controladas de casa de vegetação. A realização de testes em campo é comum,



principalmente onde oósporos são os mais importantes componentes das epidemias (Frederiksen, 1980). A inoculação natural de conídios em campo é feita plantando-se fileiras de material susceptível inoculado 20 a 25 dias antes do material a ser testado (Pande & Singh, 1992; Lima *et al.*, 1982). As avaliações são realizadas considerando-se a incidência de plantas com sintomas de infecção sistêmica. Testes realizados em casa de vegetação, principalmente utilizando-se técnicas de inoculação de conídios, têm sido preferidas devido à consistência nos resultados obtidos (Frederiksen, 1980). Neste caso, pode-se avaliar sintomas de infecção sistêmica, mas também avalia-se a presença ou ausência de esporulação do patógeno (Craig & Frederiksen, 1983). Diferentes técnicas de inoculação de conídios são usadas para testes de resistência a *P. sorghi* em casa de vegetação (Jones, 1970; Schmitt & Freytag, 1974; Craig, 1976; Williams *et al.*, 1982). É importante ressaltar que, no Brasil, poucos foram os trabalhos já realizados para a identificação de fontes de resistência ao mildio do sorgo (Gimenes-Fernandes, 1981; Gimenes-Fernandes *et al.*, 1984). Apesar da existência de alguns materiais resistentes à doença no mercado, a variabilidade apresentada pelo patógeno obriga melhoristas e fitopatologistas a estarem constantemente buscando novas fontes de resistência ao mildio (Santos, 2003).

Neste trabalho foram avaliados linhagens e híbridos de sorgo para reação ao mildio, provenientes do programa de melhoramento da Embrapa Milho e Sorgo, almejando identificar novas fontes de resistência à doença.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos em campo e casa de vegetação, no Centro Nacional de Pesquisa Milho e Sorgo (EMBRAPA), localizado na cidade de Sete Lagoas, na região central do estado de Minas Gerais.

## 2.1 Genótipos utilizados

Quarenta e dois genótipos de sorgo foram avaliados para reação ao míldio, entre eles híbridos e linhagens do Programa de Melhoramento da Embrapa, alguns dos quais com reação já conhecida como Tx430 e BR501, utilizados para a identificação de raças do patógeno (Craig & Frederiksen, 1983; Fernandes & Schaffert, 1983). Foram utilizados também genótipos considerados resistentes, como QL3 e SC170-6-17 (Frederiksen & Rosenow, 1979; Gimenes-Fernandes *et al.*, 1984 e Pawar, 1986). A cultivar SC283 foi utilizada como padrão de susceptibilidade. Todas as sementes utilizadas foram disponibilizadas pelo Programa de Melhoramento de Sorgo da Embrapa. A listagem completa dos genótipos avaliados pode ser verificada na Tabela 7.

## 2.2 Avaliações de genótipos de sorgo a *Peronosclerospora sorghi* em campo

Para a obtenção de infecção utilizou-se a combinação de fileiras disseminadoras e áreas infestadas por oósporos, como realizado pelo ICRISAT na Índia (Pande *et al.*, 1997).

Dois locais naturalmente infestados dentro da área experimental da Embrapa foram utilizados. Estes locais (denominados local 1: Mangueiras; local 2: Goiabeiras) são áreas reservadas para testes de resistência ao míldio na Embrapa, onde a manutenção de altos níveis de inóculo no solo é feita com plantios consecutivos da cultivar susceptível SC283 e posterior incorporação dos restos culturais (Frederiksen, 1980). Os materiais a serem avaliados foram semeados em parcelas de uma fileira de 5m entre duas de SC283, também de 5m cada. As fileiras de SC283 foram semeadas aproximadamente 30 dias antes do plantio do material a ser testado para atuarem como indicadoras do nível de infecção natural existente no local e como fonte de inóculo conidial.

**TABELA 7: Linhagens e híbridos de sorgo avaliados para reação ao míldio\***

<b>Designação</b>	<b>Descrição</b>	<b>Designação</b>	<b>Descrição</b>
BR001	Linhagem	9929054	Linhagem
CMSXS156B	Linhagem	9930002	Linhagem
CMSXS157B	Linhagem	9910032	Linhagem
CMSXS205B	Linhagem	9910296	Linhagem
CMSXS206B	Linhagem	0025178	Linhagem
CMSXS217B	Linhagem	0025378	Linhagem
CMSXS222B	Linhagem	0025530	Linhagem
CMSXS230B	Linhagem	Tx430	Linhagem
CMSXS231B	Linhagem	QL3	Linhagem
CMSXS232B	Linhagem	BR501	Variedade sacarino
CMSXS233B	Linhagem	SC170-6-17	Linhagem
CMSXS234B	Linhagem	CMSXS761	Híbrido
ARG-1B	Linhagem	CMSXS762	Híbrido
Tx611B	Linhagem	BRS610	Híbrido
Tx635B	Linhagem	0009033	Híbrido
B8902	Linhagem	0009055	Híbrido
IS10317B	Linhagem	9817011	Híbrido
BR012R	Linhagem	9817020	Híbrido
CMSXS180R	Linhagem	9817029	Híbrido
CMSXS182R	Linhagem	BR304	Híbrido
9929044	Linhagem	BR307	Híbrido

\* Todos os materiais são provenientes do Banco de Germoplasma do CNPMS.

Utilizou-se o delineamento experimental blocos ao acaso, com 3 repetições. A densidade de plantio foi de 20 plantas/metro. O plantio das fileiras disseminadoras (SC283) foi realizado dia 08/01/2003 e o material a ser testado foi semeado dia 10/02/2003.

As avaliações de incidência foram realizadas aos 60 dias após o plantio, contando-se o número total de plantas de cada parcela e o número de plantas com infecção sistêmica. Foram calculadas as porcentagens de plantas doentes e as reações dos genótipos separadas em quatro categorias (Frederiksen, 1980): resistente, até 6% de plantas com infecção sistêmica; moderadamente resistente,

entre 6% e 11% de plantas com infecção sistêmica; moderadamente susceptível, entre 11% e 20% de plantas com infecção sistêmica; susceptível, acima de 20% de plantas com infecção sistêmica. Para a interpretação dos resultados realizou-se análise de cluster, tomando-se como base a matriz de distância euclidiana e o método de agrupamento UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Average). Foi utilizado o programa estatístico NTSYS.

### **2.3 Avaliações de genótipos de sorgo a *Peronosclerospora sorghi* em casa de vegetação**

Os 42 genótipos avaliados em campo foram também avaliados em casa de vegetação pelo método de inoculação em plântulas (Craig, 1976, modificado). Este método foi utilizado por ter apresentado resultados mais uniformes e, portanto, mais confiáveis, no teste de identificação de raças, relatado no capítulo 1.

Para este trabalho foram selecionados 10 isolados de *P. sorghi* (isolados 1, 3, 4, 9, 14, 19, 21, 30, 41 e 43 – Tabela 8), de forma a representar todas as regiões amostradas, conforme mencionado no capítulo 1. Estes isolados foram identificados como raças distintas de *P. sorghi* no teste de identificação de raças.

Os procedimentos adotados para inoculação em plântulas foram os mesmos adotados para a metodologia já descrita no teste de identificação de raças. Para avaliar as reações dos 42 genótipos aos 10 isolados foram realizados 8 experimentos. Devido a limitações de espaço físico e de bandejas adaptadas para a inoculação, os 42 genótipos foram separados em dois grupos de 21. Para cada grupo foram constituídos quatro experimentos, sendo três inoculados com três isolados e um com apenas um isolado. Em cada bandeja de inoculação foram dispostos 22 copos (21 genótipos a serem avaliados e a linhagem SC283, incluída como controle susceptível). O delineamento experimental utilizado foi

blocos ao acaso com parcelas subdivididas e três repetições. Cada parcela foi representada por uma bandeja inoculada por um isolado e as subparcelas foram representadas pelos genótipos distribuídos ao acaso dentro de cada parcela.

TABELA 8: Isolados de *Peronosclerospora sorghi* utilizados para inoculação artificial em plântulas de sorgo em casa de vegetação.

Isolado	Hospedeiro	Cidade	Estado	Coleta*
001	Sorgo – <i>S. bicolor</i>	Sete Lagoas	MG	09/2001
003	Sorgo – <i>S. bicolor</i>	Sete Lagoas	MG	09/2001
004	Sorgo – <i>S. bicolor</i>	Paracatu	MG	08/2002
009	Sorgo vassoura	Casa Branca	SP	01/2003
014	<i>Sorghum verticilliflorum</i>	Casa Branca	SP	01/2003
019	Sorgo - <i>S. bicolor</i>	Palotina	PR	03/2003
021	Sorgo - <i>S. bicolor</i>	Palotina	PR	03/2003
030	Sorgo - <i>S. bicolor</i> (BR501)	Sete Lagoas	MG	03/2003
041	Sorgo - <i>S. bicolor</i> (SC283): Local 1	Sete Lagoas	MG	03/2003
043	Sorgo - <i>S. bicolor</i>	Pelotas	RS	04/2003

\* Mês e ano de coleta

No dia anterior à avaliação, os genótipos foram submetidos a uma câmara úmida montada em casa de vegetação para estimular a esporulação. As bandejas foram colocadas sob mesas na casa de vegetação que foram totalmente cobertas com pano úmido e plástico, por um período de aproximadamente 16

horas. As avaliações foram realizadas 10 dias após a inoculação. As reações que resultaram em esporulação nos sintomas iniciais de infecção sistêmica foram consideradas como indicadoras de reação de compatibilidade e classificadas como suscetíveis. Aquelas que não resultaram em esporulação foram consideradas como indicadora de reação de incompatibilidade e classificadas como resistentes (Craig & Frederiksen, 1983).

### 3 RESULTADOS

#### **Avaliações de genótipos de sorgo a *Peronosclerospora sorghi* em campo**

Considerando-se uma linha corte equivalente a uma distância euclidiana média de 0,784 no dendrograma gerado a partir da análise de cluster, os 42 genótipos foram separados em 4 grupos (Figura 5). O grupo I foi formado por 21 genótipos com reações semelhantes de resistência nos dois locais avaliados. Dentre estes, os genótipos CMSXS156B, CMSXS157B, CMSXS243B, TxARG-1, B8902, 9929054, 9910032, 9910296, Tx430, QL3, SC170-6-17, CMSXS762 e BR304 apresentaram-se como resistentes, considerando-se o limite máximo de 6% de incidência (Frederiksen, 1980). Entre os resistentes, os genótipos SC170-6-17 e 9910296 apresentaram 0% de incidência em ambos os locais, sendo considerados totalmente resistentes. Os genótipos CMSXS206B, BR012 e BR307 também apresentaram incidência menor que 6% no local 1 e 6,76%, 8,09% e 9,04%, respectivamente, no local 2. Os genótipos BR001, 9929044, CMSXS182R, 9817011 e 0009055, também reunidos neste grupo, apresentaram incidência média de 6% a 18,98%. No grupo II foram reunidos os genótipos que apresentaram menor incidência de mildio no local 1 em relação ao local 2. Entre eles, os genótipos CMSXS205B e BR501, com 0% de incidência no local 1 e 19,78% e 24,14% no local 2, respectivamente. Os genótipos IS10317B,

CMSXS761 e 9817029 apresentaram incidência média de 7,66%, 4,72% e 6,73% no local 1, e 36,23%; 33,29% e 27,73%, respectivamente, no local 2. O grupo III reuniu os genótipos CMSXS222B, CMSXS230B, Tx611, Tx635, 0009033, CMSXS180R, 9930002, 0025178, 0025530, BRS610 e 9817020, com incidência média de 15% a 35% e foram classificados como materiais moderadamente suscetíveis a susceptíveis. Dentre estes, os genótipos Tx611 e 9817011 (15,52% e 15,57% de incidência, respectivamente, no local 2) foram os únicos que apresentaram menos de 18,98% no local 2. O grupo IV incluiu os genótipos CMSXS217B, CMSXS231B, CMSXS232B, CMSXS233B e 0025378, com incidência média entre 40% a 61%; estes materiais foram considerados como susceptíveis (Frederiksen, 1980). De modo geral, a incidência média da doença foi maior no local 2 (19,97%), em relação ao local 1 (14,57%). O genótipo SC283 apresentou, em média, 85% de incidência. Os valores médios de incidência da doença apresentados pelos 42 genótipos nos 2 locais testados estão representados na Tabela 9.

TABELA 9: Valores médios de incidência dos 42 genótipos de sorgo avaliados em campo para reação ao mildio, nos dois locais testados.

Genótipo	% média de plantas com infecção sistêmica		Genótipo	% média de plantas com infecção sistêmica	
	Local 1	Local 2		Local 1	Local 2
9910296	0	0	CMSXS205B	0	19,78
SC170-6-17	0	0	BR501	0	24,14
CMSXS234B	0	0,27	IS10317	7,66	36,32
QL3	0	0,33	CMSXS761	4,72	33,29
CMSXS156B	0	0,36	9817029	6,73	27,73
CMSXS157B	0	0,32	CMSXS222B	24,35	24,97
Tx430	0,48	0	CMSXS230B	32,6	26,58
B8902	0	0,51	Tx611B	22,63	15,52
9929054	0	0,51	Tx635B	18,59	35,73
TxARG-1B	0	0,54	0009033	21,53	20,15
9910032	1,23	2,33	CMSXS180R	26,77	45,13
CMSXS762	0,73	5,16	9930002	30,85	35,94
BR304	3,93	5,2	0025178	34,83	30,56
CMSXS206B	1,27	6,76	0025530	17,02	37,69
BR012R	4,89	8,1	BRS610	24,9	38,24
BR307	4,22	9,03	9817020	29,82	15,58
BR001	9,93	5,77	CMSXS217B	40,21	52,94
9929044	8,98	9,73	CMSXS231B	42,13	60,1
CMSXS182R	10,21	18,98	CMSXS232B	48,72	56,93
9817011	7,73	15,49	CMSXS233B	56,8	47,02
0009055	13,17	15,97	0025378	53,76	49,27



TABELA 10. Reações dos 42 genótipos de sorgo avaliados a 10 isolados de *Peronosclerospora sorghi*.

Genótipos	Isolados/Reação <sup>(1)</sup>									
	1	3	4	9	14	19	21	30	41	43
BR001	S	*	S	*	S	*	*	S	R	S
CMSXS156B	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
CMSXS157B	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
CMSXS205B	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
CMSXS206B	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
CMSXS217B	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
CMSXS222B	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
CMSXS230B	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
CMSXS231B	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
CMSXS232B	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
CMSXS233B	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
CMSXS234B	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
TxARG-1B	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Tx611B	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S
Tx635B	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
B8902	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R
IS10317B	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
BR012R	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S
CMSXS180R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
CMSXS182R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S
9929044	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S
9929054	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R
9930002	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
9910032	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
9910296	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
0025178	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
0025378	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
0025530	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
Tx430	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
QL3	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
BR501	S	R	R	R	R	S	R	S	R	S
SC170-6-17	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
CMSXS761	S	R	S	S	R	S	S	S	R	S
CMSXS762	S	S	R	S	R	S	R	R	R	S
BRS610	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

...continua...

TABELA 10, Cont.

Genótipos	Isolados/Reação <sup>(1)</sup>									
	1	3	4	9	14	19	21	30	41	43
0009033	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
0009055	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
9817011	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
9817020	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
9817029	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
BR304	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
BR307	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

<sup>(1)</sup> S: Susceptível; R: resistente; \*: falha na germinação, falta de dados.

#### 4 DISCUSSÃO

Há indicações, na literatura, de concordância entre resultados obtidos de inoculação artificial de *P. sorghi* e resultados de avaliações em campo para resistência, sob condições de infecção natural (Craig, 1976; Craig & Frederiksen, 1983; Gimenes-Fernandes *et al.*, 1984). No presente trabalho, tal fato foi observado em relação à reação de resistência apresentada pelos genótipos CMSXS156B, CMSXS157B, CMSXS234B, TxARG-1B, 9910032, 9910296, Tx430, QL3 e SC170-6-17, agrupados no grupo I (Figura 5) no ensaio de campo e confirmada em casa de vegetação. São interessantes para os programas de melhoramento, materiais que apresentem total resistência à doença (0% de incidência), como no caso do genótipo 9910296 e SC170-6-17. No Brasil, de acordo com as normas do Ministério da Agricultura, a presença de uma planta com míldio sistêmico é suficiente para se condenar um campo de produção de sementes. Isso evidencia que materiais totalmente resistentes devem ser utilizados para produção de sementes.

A resistência oferecida por QL3 parece ser de alta durabilidade (Craig & Odvody, 1992; Williams *et al.*, 1982). No entanto, não há relato de sucesso na transferência dessa resistência para híbridos de sorgo que apresentem

características agronômicas desejáveis. A resistência demonstrada por Tx430 em campo e a isolados de diversas regiões, em casa de vegetação, sugere a ausência da raça 3 no Brasil, pois Tx430 é a diferenciadora dessa raça no Texas (Craig & Frederiksen, 1983) e confirma os resultados obtidos no capítulo 1. A resistência de Tx430 foi relatada também por Gimenes-Fernandes *et al.* (1984). O genótipo SC170-6-17 confirmou a reação de resistência relatada em outros trabalhos (Frederiksen & Rosenow, 1979; Gimenes-Fernandes *et al.*, 1984).

Os genótipos BR501, diferenciador da raça 4 no Brasil (Fernandes & Schaffert, 1983) e CMSXS205B, ambos agrupados no grupo II, apresentaram susceptibilidade num dos locais de avaliação (local 2 - Goiabeiras) e 0% de incidência no outro, evidenciando diferenças na população de *P. sorghi*, dentro da área experimental da Embrapa em Sete Lagoas. Infere-se que *P. sorghi* pode apresentar alta diversidade genética ainda que dentro de uma mesma população. As reações de resistência apresentadas por BR501 e CMSXS205B no campo foram confirmadas após inoculações artificiais em casa de vegetação com o isolado 41, obtido do local onde estes genótipos apresentaram 0% de incidência.

As relações entre reações à inoculação artificial de conídios e à infecção natural são complexas e não estão necessariamente correlacionadas, já que os oósporos constituem inóculo inicial no solo (Yeh & Frederiksen, 1980). Cultivares de sorgo resistentes em campo podem se mostrar susceptíveis à inoculação de conídios em casa de vegetação (Kenneth & Shahor, 1973; Yeh & Frederiksen, 1980; Gimenes-Fernandes *et al.*, 1984). Os genótipos B8902, 9929054, CMSXS762 e BR304, resistentes em campo e agrupados no grupo I (Figura 5), apresentaram susceptibilidade em casa de vegetação à infecção por conídio. O híbrido BR304 foi susceptível a todos os isolados inoculados em casa de vegetação, inclusive ao isolado 41. Pode-se atribuir as reações de resistência, pelo menos em parte, à ocorrência de escapes, pois, em campo, as condições de inoculação não são controladas, podendo ocorrer disseminação desuniforme de

oósporos no solo e a infecção pode se dar também por conídios. Pode-se considerar também que a resistência apresentada por estes genótipos em campo tenha sido vencida pelas condições de inoculação artificial em que se realizaram os experimentos. No campo, a infecção foi provocada principalmente por conídios, indicado pela grande quantidade de lesões locais observadas nos materiais. Dessa forma, os conídios podem ter caído em plântulas em idade mais avançada, o que pode ter impedido o progresso da doença. Este fato pode ter acontecido, principalmente com o híbrido BR304, que apresenta ciclo precoce, quando comparado aos demais genótipos avaliados. O desenvolvimento vegetativo pode favorecer a formação de algum tipo de resistência estrutural após a entrada do patógeno, que restringe o crescimento das hifas do fungo (Craig, 1980; Yeh & Frederiksen, 1980).

Pode-se sugerir que a resistência apresentada por BR304, B8902, 9929054 e CMSXS762, em campo, seja devida a um mecanismo provavelmente estrutural e que este tipo de resistência tenha sido vencido pelas condições de inoculação artificial em casa de vegetação. Entretanto, estes aspectos ainda não estão bem claros e novos estudos devem ser conduzidos e direcionados para possíveis caracteres estruturais do hospedeiro capazes de impedir o desenvolvimento de *P. sorghi*.

Há a possibilidade ainda de que resistência em campo e susceptibilidade em casa de vegetação ocorram devido a diferenças no mecanismo de resistência a diferentes estruturas de penetração, como oósporos e conídios. De acordo com Craig (1982), o mecanismo de resistência à infecção ou colonização por germinação conidial difere daquele de resistência a oósporos (Craig, 1982). Devido ao fato de que o controle genético de cada mecanismo de resistência pode diferir, genes controlando resistência à infecção por conídios podem não operar contra a infecção por oósporos (Salumu-Shabani & Frederiksen, 1982). Algumas cultivares são resistentes à infecção por oósporos, mas,

moderadamente susceptíveis à infecção por conídios (Craig, 1980; Yeh & Frederiksen, 1980).

Os genótipos CMSXS206B, 0009055, 9817011 e BR307, susceptíveis em casa de vegetação, apresentaram resistência moderada (entre 6% e 11% de infecção sistêmica) a moderada susceptibilidade (entre 11% e 20% de infecção sistêmica) no campo. Linhagens e híbridos moderadamente resistentes a *P. sorghi* são capazes de perpetuar o patógeno no solo, mas o nível de infecção não é suficiente para causar perdas significativas à produção (Frederiksen, 1980). No entanto, devem ser utilizados com cautela e avaliados os riscos de seus usos. Os genótipos Tx635B, IS10317B, 9817020 e 9817029 foram susceptíveis em casa de vegetação e moderadamente susceptíveis a susceptíveis em campo. Linhagens moderadamente susceptíveis em campo talvez não sejam tão vulneráveis quanto as susceptíveis, mas podem perpetuar o patógeno e prover perdas na produção sob condições favoráveis (Frederiksen, 1980). Devido a diferenças de incidência apresentadas por genótipos em áreas distintas e como constante evolução na população do patógeno é esperada, antes da recomendação de uma cultivar para uma dada região, as condições locais devem ser avaliadas. Reação de resistência em uma área para um dado genótipo pode não ser confirmada em outra.

Apesar da alta variabilidade do patógeno, de maneira geral, os materiais avaliados para resistência em casa de vegetação apresentaram uniformidade nas reações às raças inoculadas. Tal fato pode indicar a qualidade superior destes genótipos para resistência à doença.

## 5 CONCLUSÕES

Os genótipos CMSXS156B, CMSXS157B, CMSXS234B, TxARG-1B, 9910032, 9910296, Tx430, QL3 e SC170-6-17 apresentaram alta resistência a *P. sorghi*, tanto sob condições de infecção natural quanto às raças de *P. sorghi* em

casa de vegetação e podem se constituir em fontes de genes de resistência ao míldio do sorgo no Brasil.

A metodologia de inoculação de conídios em plântulas em condições controladas se aproximou bem das condições epidemiológicas da doença no campo, apesar da ocorrência de algumas reações de resistência em campo e susceptibilidade em casa de vegetação.

Antes da recomendação de genótipos resistentes para uma dada região, deve-se primeiro avaliar as condições locais, pois materiais resistentes em um local podem não ser em outro devido à alta diversidade genética apresentada por *P. sorghi*.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CASELA, C.R.; FERREIRA, A.S. O míldio do sorgo. Sete Lagoas: EMBRAPA MILHO E SORGO, 2001. (Circular Técnica, 12).

CASELA, C.R.; FERREIRA, A.S.; BARBOSA, F.C.R. Infecção no sorgo. *Cultivar*, p. 24-26, fev. 2002.

CRAIG, J. An inoculation technique for identifying resistance to sorghum downy mildew. *Plant Disease Reporter*, v.60, p.350-352, 1976.

CRAIG, J. Comparative reaction of corn inbreds to oospore and conidial inoculum of *Peronosclerospora sorghi*. *Phytopathology*, v.70, p.313-315, 1980.

CRAIG, J. Identification of sorghum downy mildew resistance in corn by leaf reaction to conidial inoculum. *Phytopathology*, v.72, p.351-352, 1982.

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.

CRAIG, J.; ODVODY, G.N. Current status of sorghum downy mildew control. In: de MILLIANO, W.A.J.; FREDERIKSEN, R.A.; BERGSTON, G.D. (Ed.). **Sorghum and millet diseases: a second world review**. Patancheru, Índia: Internacional Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, 1992. p.213-217. 1992.

FERNANDES, F.T.; SCHAFFERT, R.E. The reaction of several sorghum cultivars to a new race of sorghum downy mildew (*Peronosclerospora sorghi*) in southern Brazil in 1982-83. **Agronomy Abstracts**, v.27, p.63, 1983.

FREDERIKSEN, R.A. Sorghum downy mildew in the United States: overview and out look. **Plant Disease**, v.64, n.10, p.903-908, 1980.

FREDERIKSEN, R.A.; RENFRO, B.L. Global status of maize downy mildew. **Annual Review of Phytopathology**, v.15, p.249-275, 1977.

FREDERIKSEN, R.A.; ROSENOW, D.T. **Breeding for diseases resistance in sorghum**. In: **Biology and breeding for resistance to arthropods and pathogens in agricultural plants**. College Station, Texas: Texas A & M University, 1979. p.137-167.

GIMENES FERNANDES, N. **Método de avaliação e herança da resistência a *Peronosclerospora sorghi* (Weston & Uppal) C.G. Shaw em sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]**. 1981. 95 p. (Livre Docência)-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal.

GIMENES-FERNANDES, N.; FREDERIKSEN, R.A.; PENA, A.M. Avaliação da resistência ao mildio (*Peronosclerospora sorghi* (Weston & Uppal) C.G. Shaw) através da leitura das lesões foliares locais. **Summa Phytopathologica**, v.10, p.189-205, 1984.

JONES, B.L. A simple technique of inoculating sorghum with *Sclerospora sorghi* using conidia as inoculum. **Plant Disease Reporter**, v.54, p.603-604, 1970.

KENNETH, R.; SHAHOR, G. Systemic infection in sorghum and corn by conidia of *Sclerospora sorghi*. **Phytoparasitica**, v.1, p.13-21, 1973.

LIMA, M. et al. Introduction of maize (*Zea mays* L.) germplasm as sources for downy mildew (*Peronosclerospora sorghi*) resistance. **Maydica**, v. 27, p.159-168. 1982.

PANDE, S.; SINGH, S.D. Successful transfer of ICRISAT downy mildew resistance screening technology: an example of transfer of technology In: MILLIANO, W.A.J.; FREDERIKSEN, R.A.; BERGSTON, G.D. (Ed.). **Sorghum and millet diseases: a second world review**. Patancheru, Índia: Internacional Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, 1992. p.331-334.

PANDE, S. et al. **Downy mildew of sorghum**. Patancheru, India: International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, 1997. 28 p. (Information Bulletin, 51).

PAWAR, M.N. **Pathogenic variability and sexuality in *Peronosclerospora sorghi* (Weston and Uppal) Shaw, and comparative nuclear cytology of *Peronosclerospora* sp.** College Station, Texas: Texas A&M University, 1986. 107p. (Phylosophy Doctor in Plant Pathology).

SALUMU-SHABANI; FREDERIKSEN, R.A. Symptoms of sorghum downy mildew on maize following inoculations with conidia and oospores. **Plant Disease**, v.66, p.1006-1008, 1982.

SANTOS, J.B.dos. **Melhoramento de plantas visando resistência à doenças**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2003. 72p.

SCHMITT, C.G.; FREYTAG, R.E. A quantitative technique for inoculating corn and sorghum with conidia *Sclerospora sorghi*. **Plant Disease Reporter**, v.58, p.825-829, 1974.

WILLIAMS, R.J. et al. Identification of QL3 sorghum: a source of resistance to *Peronosclerospora sorghi*. **Plant Disease**, v.66, p.807-809, 1982.

YEH, Y.; FREDERIKSEN, R.A. Sorghum downy mildew: biology of systemic infection by conidia and of a resistant response in sorghum. **Phytopathology**, v.70, p.372-376, 1980.