

CHRISTIANO COSTA SIMÕES

**CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DA RESISTÊNCIA AO MÍLDIO
(*Peronosclerospora sorghi*) EM SORGO (*Sorghum bicolor* L.
MOENCH)**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Bioquímica Agrícola,
para obtenção do título de *Magister
Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2008

CHRISTIANO COSTA SIMÕES

**CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA DA RESISTÊNCIA AO MÍLDIO
(*Peronosclerospora sorghi*) EM SORGO (*Sorghum bicolor* L.
MOENCH)**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como
parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Bioquímica Agrícola,
para obtenção do título de *Magister
Scientiae*.

APROVADA: 30 de abril de 2008.

Dr. Jurandir Vieira de Magalhães
(Co-Orientador)

Prof. Luiz Orlando de Oliveira
(Co-Orientador)

Dra. Claudia Teixeira Guimarães

Prof. Everaldo Gonçalves de
Barros

Prof. Maurílio Alves Moreira
(Orientador)

DEDICATÓRIA

“Aos meus pais, Athos e Maria, pelo apoio incondicional, dedicação, amor e incentivo”.

“A Daniela por seu amor, compreensão, apoio e amizade”.

*“Nós, homens do conhecimento, não nos conhecemos;
de nós mesmos somos desconhecidos”*

Friedrich Nietzsche

AGRADECIMENTOS

A minha família: Athos, Maria, Luciano, Danilo, Edith, Cíntia, Thiago, Gabriela, Marina e Pedro.

A Daniela pelo seu amor, carinho, compreensão e também a sua família pelo apoio.

A Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular pela possibilidade de realização do curso de mestrado.

A Fundação McKnight e à FAPEMIG pelo apoio financeiro durante o período de realização desse trabalho.

Ao professor Maurílio Alves Moreira pela compreensão e disponibilidade em participar desse trabalho.

Aos amigos Michel, Marlos e Juninho por sempre poder contar com vocês, por serem grandes amigos.

Aos orientadores e amigos Jurandir, Cláudia, Schaffert, Casela, Eliane e Sílvia, pela orientação, disponibilidade, amizade e competência.

Ao secretário Eduardo Monteiro pela competência e amizade.

Aos amigos do NBA, Bira, Célio, Édna, Edmilson, Wanderson e estagiários que participaram dessa dissertação.

Aos amigos do Laboratório de Resistência a Doenças, Xaxá, Rodrigo, Clóvis Ribeiro, Cibele, Dágma, Michele, Josiane e Marcela.

A todos os amigos da Embrapa Milho e sorgo pela amizade e companheirismo.

Aos funcionários Dênio, Gilberto e Sr. Geraldo pela grande contribuição na parte experimental.

A todos envolvidos na execução desse trabalho o meu muito obrigado.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	VI
LISTA DE FIGURAS	VII
RESUMO	IX
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	2
2.1 O Sorgo	2
2.2 O patógeno	3
2.3 Distribuição geográfica e importância do míldio	3
2.4 Variabilidade patogênica <i>Peronosclerospora sorghi</i>	4
2.5 Biologia do patógeno	6
2.6 Sintomatologia	8
2.7 Genética da resistência ao míldio.....	9
2.8 Mapeamento genético para resistência ao míldio em sorgo.....	13
3 OBJETIVOS	12
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	12
4.1 Linhagens de sorgo e seus cruzamentos	12
4.2 População de linhagens recombinantes (RIL)	13
4.3 Raças de <i>Peronosclerospora sorghi</i> utilizadas	14
4.4 Avaliação fenotípica para resistência ao míldio	14
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
5.1 Caracterização das linhagens de sorgo quanto à resistência aos raças de <i>P. sorghi</i>	17
5.2 Caracterização da herança da resistência ao míldio em sorgo	19
5.3 Diferenciação dos genes de resistência presentes nas linhagens de sorgo.....	21
5.4 Avaliação da população de RILs	26
5.5 Diversidade genética para resistência ao míldio do sorgo na população BTx623 x IS3620C.....	27
5.6 Conclusão e possíveis estratégias para o melhoramento.....	29
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Raças de <i>P. sorghi</i> descritas nos Estados Unidos (CRAIG e FREDERIKSEN, 1980; CRAIG e FREDERIKSEN, 1983) e no Brasil (FERNANDES e SCHAFFERT, 1983).....	5
Tabela 2 - Distribuição dos raças semelhantes.	13
Tabela 3 – Relação dos cruzamentos dialélicos, sendo que x indica que o cruzamento foi realizado.	16
Tabela 4 – Resposta de resistência e susceptibilidade de 13 linhagens de sorgo a nove raças de <i>Perenosclerospora sorghi</i>	18
Tabela 5 – Ajuste da segregação observada para o modelo de um (3:1) ou dois (15:1) genes dominantes de resistência nas populações F ₂ originadas dos cruzamentos das fontes resistentes aos nove raças de <i>P. sorghi</i> com a linhagem susceptível ATF14B pelo teste de qui-quadrado.	20
Tabela 6 – Linhagens de sorgo resistentes aos seis raças de <i>P. sorghi</i> e seus respectivos números de genes de resistência ao míldio.	21
Tabela 7 – Ajuste da segregação observada para um modelo de dois (15:1) ou três (63:1) genes nas populações F ₂ provenientes dos cruzamentos dialélicos para as diferentes raças pelo teste qui-quadrado.	23
Tabela 8 – Ajuste da segregação observada para as hipóteses de segregação de um (1:1) ou dois (3:1) genes de resistência aos seis raças de <i>P. sorghi</i> na população de RILs por meio do teste qui-quadrado e suas probabilidades.	27
Tabela 9 – Resumo das hipóteses H ₀ e a freqüência de coincidência esperada entre os escores de cada raça.....	28
Tabela 10 – Avaliação da coincidência das reações de susceptibilidade e resistência pelo teste Z a 5% de probabilidade. Os asteriscos indicam que a hipótese H ₀ não foi rejeitada a 90% de certeza.	28

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1**- Ciclo de vida do *Peronosclerospora sorghi* (Barbosa, 2006) 8
- Figura 2** – Fotos de folhas de sorgo contaminadas com *P. sorghi* e folha saudável. Na imagem da esquerda estão os sintomas sistêmicos. Na imagem central as setas brancas indicam o local da esporulação enquanto que as setas cinza mostram os sintomas locais. A direita está uma folha saudável..... 9
- Figura 3** – Germinação das sementes de sorgo e manutenção das plântulas até inoculação: a) Germinação em placa de petri; b) Câmara de germinação; c) Plantio; d) Vasos acomodados nas bandejas..... 15
- Figura 4** - Manutenção *in vivo* dos patógenos; a) Lavagem das folhas contendo os conídios; b e c) Bandeja coberta com tela e com as folhas; d) cobertura das bandejas com papel toalha umedecido e plástico; e) Bandeja com os tubos de ventilação; f) Bandejas acomodadas na câmara de inoculação; g) Bandejas na casa de vegetação; h) Câmara úmida que precede a avaliação..... 16
- Figura 5** - Comparação entre folhas inoculadas com *P. sorghi*. A esquerda está uma folha de uma linhagem susceptível e a direita está uma folha de linhagem resistente..... 17
- Figura 6** - Probabilidade de se detectar pelo menos um indivíduo duplo recessivo em diversos tamanhos de populações F_2 originadas de uma F_1 em repulsão 22

RESUMO

SIMÕES, Christiano Costa, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, abril de 2008. **Caracterização Genética da Resistência ao Míldio (*Peronosclerospora sorghi*) em Sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench).** Orientador: Maurílio Alves Moreira. Co-Orientadores: Jurandir Vieira de Magalhães, Cláudia Teixeira Guimarães, Luiz Orlando de Oliveira.

No presente trabalho, foram avaliadas 13 linhagens de sorgo do programa de melhoramento genético da Embrapa Milho e Sorgo quanto à reação a nove raças de *Peronosclerospora sorghi*. Dentre as linhagens foram identificadas cinco fontes de resistência às nove raças (BTx623, Tx430, SC414-12, QL-3 e ARG-1) e duas linhagens (SC283 e ATF14B) susceptíveis às mesmas raças, sendo as demais resistentes às diversas combinações entre três e quatro raças. As cinco fontes de resistência foram cruzadas com a linhagem susceptível ATF14B e os F₁'s autofecundados para gerar populações F₂'s com 150 indivíduos aproximadamente. Pelo teste de qui-quadrado a 5% de probabilidade, foi determinado que as linhagens SC414-12, BTx623 e Tx430 apresentaram dois genes dominantes e independentes, enquanto as linhagens QL-3 e ARG-1 apresentaram apenas um gene de resistência para cada um dos seis raças mais importantes de *P. sorghi* (04A, 16A, 18A, 20A, 22A e 22B). Com base na frequência de indivíduos resistentes e susceptíveis nas populações derivadas dos cruzamentos dialélicos entre as fontes de tolerância, há grande possibilidade de que as linhagens QL-3 e ARG-1 apresentem o mesmo gene de resistência às seis raças de *P. sorghi*, pois não foram identificadas plantas susceptíveis na F₂. No entanto, por limitação do tamanho populacional não foi possível concluir sobre o número de genes segregando entre as linhagens resistentes, sugerindo a existência de efeitos epistáticos, de complementaridade entre genes e/ou diferenças no *background* genético. Uma população de 121 linhagens recombinantes originada do cruzamento entre BTx623 e uma linhagem susceptível (IS3620C) foi fenotipada pela reação às mesmas seis raças, sendo detectada a presença de dois genes dominantes de resistência na linhagem BTx623 para as raças 04A, 16A, 22A e 22B. Avaliando a coincidência da reação de susceptibilidade/resistência na população de RILs, parece que um

dos genes de resistência na linhagem BTx623 confere resistência às raças 04A e 16A enquanto as raças 22A e 22B também têm sua resistência devida a ação de um gene em comum. Por outro lado, não houve genes comuns conferindo resistência às raças 16A e 22A. Assim, o conjunto de dados obtidos fornece subsídios para a utilização de fontes de resistência ao míldio do sorgo, possibilitando a combinação de genes de resistência vertical de espectro amplo e genes específicos às raças no programa de melhoramento genético. Adicionalmente, as populações avaliadas estão prontas para o mapeamento com marcadores moleculares. A futura associação desses marcadores com a resistência ao míldio do sorgo e sua efetiva aplicação na seleção assistida para resistência ao míldio em sorgo é de grande interesse para o programa de melhoramento genético da Embrapa Milho e Sorgo.

ABSTRACT

SIMÕES, Christiano Costa, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, abril de 2008. **Genetic Characterization of the Resistance to the Downy Mildew (*Peronosclerospora sorghi*) in Sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench)**. Adviser: Maurílio Alves Moreira. Committee Members: Jurandir Vieira de Magalhães, Cláudia Teixeira Guimarães, Luiz Orlando de Oliveira.

In this work, were assessed 13 strains of sorghum from the breeding program of the Embrapa Maize and Sorghum about the reaction to nine races of *Peronosclerospora sorghi*. Among the lines were identified five sources of resistance to nine races (BTx623, Tx430, SC414-12, QL-3 and ARG-1), two lines (SC283 and ATF14B) that were susceptible to the same races, and six lines with a variable reaction of resistant and susceptibility depending upon the race inoculated. The five sources of resistance were crossed with the susceptible line ATF14B and F1's selfed to generate F2 populations with 150 individuals. For Chi-square test to 5% level of probability, it was determined that the lines SC414-12, BTx623 and Tx430 had two dominant and independent genes, while the lines QL-3 and ARG-1 had only one gene for resistance to each the six most i races of *P. sorghi*. Based on the frequency of resistant and susceptible individuals in populations derived from diallelic crosses between sources of resistance there is a strong possibility that the lines QL-3 and ARG-1 have the same gene for resistance to six races of *P. sorghi* as no susceptible plant was identified in the F2 generation between these two crosses. However, by limiting the population size could not be concluded on the number of genes segregando between resistant strains, suggesting the existence of epistatic effects of complementarity between genes and / or differences in genetic background. A population of 121 recombinant strains caused the crossing and a lineage likely BTx623 (IS3620C) was phenotyped by the reaction to the same six races, and detected the presence of two dominant genes for resistance in line BTx623 to the races 04A, 16A, 22A and 22B. Assessing the coincidence of the reaction of susceptibility / resistance in the population

of RILs, it seems that one of the resistance genes in line BTx623 confers resistance to races 04A and 16A as the races 22A and 22B also have their resistance due to action of a gene in common. On the other hand, there was no common genes conferring resistance to races 16A and 22A. Thus, the set of data provides subsidies for the use of sources of resistance to brown rot sorghum, allowing the combination of resistance genes vertical and broad spectrum of specific genes to the races in the breeding program. Additionally, people are judged ready for the mapping with molecular markers. The future of these markers association with the resistance to downy mildew sorghum and their effective implementation assisted in the selection for resistance to downy mildew in sorghum is of great interest for the breeding program of the Embrapa maize and sorghum.

1. INTRODUÇÃO

O sorgo (*Sorghum bicolor* L. MOENCH) é uma importante cultura em grande parte do mundo, principalmente onde o clima semi-árido prevalece como em países da África, da Ásia e das Américas. Atualmente, o sorgo é um dos grãos mais produzido no mundo, sendo superado apenas pela soja, milho, arroz e trigo (<http://faostat.fao.org/>).

No Brasil, nos últimos anos, houve uma grande expansão na área cultivada com sorgo, principalmente devido à adaptação da cultura ao plantio em sucessão à soja, quando o risco climático para a cultura do milho é maior (CASELA, 2002). A produção brasileira de sorgo foi estimada em 1,65 milhões de toneladas para a safra 2007/08, sendo que a região centro-oeste destaca-se com 65% da produção total, com o estado de Goiás sendo responsável por 37% da produção total desse cereal (CONAB, 2008). A produção de grãos de sorgo pode ter uma função reguladora no mercado de grãos, evitando altas excessivas no preço devido às elevadas demandas de outros cereais, como o milho. Entretanto, para que a cultura do sorgo continue ocupando posição de destaque na agricultura nacional, é vital o controle eficiente das doenças e das pragas que afetam essa cultura. Dentre essas doenças estão a antracnose, a ferrugem, a helmintosporiose e, como foco deste trabalho, o míldio do sorgo.

O míldio do sorgo, causado pelo fungo *Peronosclerospora sorghi* (WESTON e UPPAL) C.G. SHAW, adquire, em nossas condições, uma grande importância, pelo fato de causar esterilidade quando as plantas de sorgo são infectadas em estádios iniciais de seu desenvolvimento (FERNANDES, 1980). Além disso, o patógeno tem como hospedeiros tanto o sorgo quanto o milho, aumentando consideravelmente sua capacidade de se disseminar, pelo fato do milho ser uma cultura amplamente difundida no país e no mundo. No campo, os efeitos do *P. sorghi* em sorgo granífero mostram uma relação linear entre a incidência de infecção sistêmica e as perdas no rendimento em densidades normais de plantio (FREDERIKSEN, 1973; TULEEN e FREDERIKSEN, 1981; CRAIG, 1989).

No Brasil, o míldio foi relatado inicialmente na década de 60 e apresentava-se restrito aos estados da região Sul. No entanto, a incidência da doença tem se expandido aos estados das regiões Sudeste e Centro-Oeste

(CASELA e FERREIRA, 2001), evidenciando a capacidade de adaptação do patógeno a diversas condições climáticas.

Atualmente não há registro no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) de nenhum fungicida para o controle de *Peronosclerospora sorghi* na cultura do sorgo (http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons).

A utilização da resistência genética é a estratégia mais eficiente para o controle do míldio (FREDERIKSN e RENFRO, 1977; GIMENES-FERNANDES et al., 1984), além disso, métodos alternativos ao controle químico devem ser buscados, para reduzir os impactos ambientais, os custos de produção e o risco de desenvolvimento de resistência pelo patógeno. Contudo, a variabilidade apresentada pelo patógeno em nossas condições (BARBOSA et al., 2006) pode representar uma dificuldade no desenvolvimento de cultivares de sorgo resistentes ao míldio (CASELA, 2002). Devido a isso, os programas de melhoramento de sorgo têm procurado diversificar as fontes de resistência, a fim de diminuir a vulnerabilidade da cultura à doença (CRAIG, 1980).

O presente trabalho teve como objetivo a identificação de linhagens de sorgo resistentes aos diferentes raças do agente causal do míldio em sorgo e o estudo da herança da resistência nas fontes identificadas. Essas etapas são fundamentais para a incorporação e o manejo da resistência ao *P. sorghi* em cultivares de sorgo.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. O sorgo

O sorgo é uma importante cultura para consumo humano e animal, ocupando uma área mundial em torno de 60 milhões de toneladas em 2006 (<http://faostat.fao.org/>). O sorgo apresenta boa tolerância aos estresses abióticos, podendo ser cultivado em regiões onde as plantas de milho geralmente sucumbem devido a estresses como o de seca. Trata-se de uma cultura antiga, que tem sido cultivada nos últimos 5000 anos. O sorgo originou-se provavelmente no nordeste da África (MANN et al., 1983).

No Brasil, a cultura do sorgo tem sido cada vez mais difundida, principalmente devido ao seu plantio em sucessão a cultura da soja, pois esta última ocupa grande espaço no cenário agrícola nacional. A área ocupada com produção de sorgo na safra 2006/07 foi de aproximadamente 704.400 ha, tendo aumentado para 734.900 ha na safra atual (CONAB, 2008). A produção de grãos de sorgo na safra 2006/07 foi estimada em 1,49 milhão de toneladas, enquanto que na safra 2007/08 a produção está estimada em aproximadamente 1,66 milhão de toneladas (CONAB, 2008).

Os estados brasileiros com maior produção de sorgo estão na região Centro-Oeste, com destaque para o estado de Goiás, com a produção de 577,9 mil toneladas, seguido do Mato Grosso, segundo maior produtor, com 280,2 mil toneladas na safra 2007/08. Foi observado um avanço na produção desse cereal nas safras 2006/2008, de 7,7% em Goiás, de 35,8% no Mato Grosso e da ordem de 113,2% no Piauí (CONAB, 2008).

2.2. O patógeno

O patógeno causador do míldio do sorgo foi identificado inicialmente na Índia, onde recebeu a denominação de *Sclerospora graminicola* (BUTLER, 1907). KULKARNI (1913) observou uma fase assexual no processo reprodutivo do fungo, sendo então recomendado que, além da nomenclatura *S. graminicola*, se mencionasse também *Andropogonis-sorghii*. Posteriormente, estudos de morfologia conduzidos por WESTON e UPPAL (1932) estabeleceram *Sclerospora sorghi* como a nomenclatura mais adequada. Mais tarde, C. G. SHAW (1980) definiu que a denominação do gênero *Sclerospora* deveria ser substituída por uma nova designação de *Peronosclerospora* para designar o fungo causador do míldio em gramíneas. Assim, levando-se em consideração todo o ciclo de vida do patógeno, a denominação atualmente adotada é *Peronosclerospora sorghi* (WESTON e UPPAL) C.G. SHAW (1980).

2.3. Distribuição geográfica e importância do míldio

O míldio do sorgo é capaz de infectar tanto o sorgo quanto o milho. Quando a doença ocorre nos estádios iniciais do desenvolvimento da planta, a

redução na produção pode exceder 50% em ambas as culturas (VON PINHO e VASCONCELOS, 2002). Essas perdas podem chegar a 80%, principalmente se as cultivares forem susceptíveis. O patógeno *Peronosclerospora sorghi* tem sido relatado em mais de 40 países distribuídos nos continentes africano, asiático, na Oceania, nas Américas do Norte, Central e do Sul e no Mediterrâneo Oriental (BOCK e JEGER, 1996; JEGER, 1998).

No Texas, na década de 60, uma epidemia de míldio causou grandes danos com incidência de 90% em alguns campos de sorgo, com prejuízo estimado em US\$ 2,5 milhões (FREDERIKSEN, 1969). Em Israel, campos de milho e de sorgo forrageiro apresentaram incidência da doença superior a 50% (KENNETH, 1976). Na África do Sul foi verificada incidência maior que 40% de infecção sistêmica ocasionada por *P. sorghi* em campos de milho e sorgo (VAN DER WESTHUIZEN, 1977). O patógeno apresenta variabilidade genética expressiva, com raças tendo sido descritas nas diversas regiões onde a doença é encontrada.

No Brasil o míldio encontra-se disseminado nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste. BARBOSA (2004), em análise de agrupamento, verificou ausência de diferenciação geográfica entre os isolados das diversas raças de *P. sorghi*, evidenciando similaridade entre as populações do patógeno geograficamente distantes no Brasil. Portanto, a busca de fontes de resistência em cultivares que apresentam resistência ampla às diversas raças do patógeno é de grande interesse para Embrapa e empresas produtoras de sementes de sorgo.

2.4. Variabilidade patogênica em *Peronosclerospora sorghi*

Raças fisiológicas são populações de fitopatógenos com características morfológicas semelhantes, mas que apresentam diferenças em certas características culturais, fisiológicas, bioquímicas, patológicas ou outras (HAWKSWORTH, 1983). Embora com fisiologia distinta, as raças fisiológicas exibem variabilidade genética quanto à patogenicidade em diferentes genótipos do hospedeiro (SANTOS, 2003). Raças verticais são populações do patógeno que podem ser diferenciadas por suas interações com plantas de uma mesma espécie que possuem resistência vertical (ROBINSON, 1969). Cinco raças

distintas de *P. sorghi* foram descritas nas Américas (Tabela 1), sendo três nos Estados Unidos (CRAIG e FREDERIKSEN, 1983), uma no Brasil (FERNANDES e SCHAFFERT, 1983) e uma em Honduras (FERNÁNDEZ e MECKENSTOCK, 1987; CRAIG e ODVODY, 1992).

Tabela 1: Raças de *P. sorghi* descritas nos Estados Unidos (CRAIG e FREDERIKSEN, 1980; CRAIG e FREDERIKSEN, 1983) e no Brasil (FERNANDES e SCHAFFERT, 1983).

Linhagens Diferenciadoras	Raças de <i>P. sorghi</i>			
	1	2	3	4
Tx412	S	S	S	S
CS3541	R	S	S	S
Tx430	R	R	S	S
QL3	R	R	R	S
BR501	R	R	R	S

R = Resistente e S = Susceptível.

No Brasil além das raças 1 e 2, FERNANDES e SCHAFFERT (1983) identificaram uma raça de *P. sorghi* com habilidade de induzir a fase sistêmica da doença na variedade de sorgo BR501, antes resistente à doença, sendo denominada raça 4. Não há evidências da presença da raça 3 no Brasil (BARBOSA, 2004). Posteriormente, utilizando linhagens diferenciadoras, BARBOSA (2004) identificou um conjunto de raças que possuem diferenças entre si com relação à virulência a genótipos de sorgo, mas que têm em comum a característica de virulência ao BR501, portanto a raça 4", descrita anteriormente por FERNANDES e SCHAFFERT (1983) , na realidade, um conjunto de raças que apresentam a característica comum de virulência ao híbrido BR501.

Nove raças de *P. sorghi* (04A, 16A, 18A, 20A, 22A, 22B, 20C, 22C e 22F) originárias de isolados provenientes de Sete Lagoas (MG), Paracatu (MG), Palotina (RS) e Pelotas (RS) foram descritas por BARBOSA (2004) que usou o método de inoculação em plântulas de uma série diferenciadora com 30 genótipos de sorgo e posterior avaliação da formação de conídios nessas

plantas, não sendo observada a infecção sistêmica para caracterizar a planta como susceptível ao míldio.

Peronosclerospora sorghi apresenta alta variabilidade patogênica no Brasil (BARBOSA, 2004), mesmo com taxas de mutação relativamente baixas, novos genótipos virulentos de *P. sorghi* podem se desenvolver durante as estações de cultivos (WILLIAMS, 1984). Além disso, a fase sexual do ciclo reprodutivo fornece os meios para recombinação genética e o aparecimento de novos genótipos patogênicos.

2.5. Biologia do patógeno

Quando há infecção por *P. sorghi*, o patógeno estabelece contato com o hospedeiro e se nutre dos tecidos susceptíveis, sendo que as condições ambientais são extremamente importantes para que essa relação aconteça (SAFEEULLA, 1975). Como o patógeno apresenta ciclo de reprodução sexuada e assexuada, pode ser disseminado por oósporos em sementes ou em restos culturais, dispersos pelo vento, ou por conídios produzidos em uma mesma estação de cultivo, ou, ainda, por micélios existentes em sementes e plantas (FREDERIKSEN, 1980).

A formação dos conídios exige condições adequadas, sendo necessário no mínimo 4 horas de alta intensidade luminosa seguido de escuro, temperatura entre 18 e 23°C e umidade relativa do ar em torno de 90% (SCHMITT e FREYTAG, 1974; SAFEEULLA e SHETTY, 1978). Nessas condições, as folhas de sorgo com infecção sistêmica chegam a produzir 10.800 conídios cm⁻² (SHETTY e SAFEEULLA, 1981). Os conídios são efêmeros e morrem dentro de quatro horas após a maturidade, mesmo sob condições ambientais favoráveis..

No início do processo de infecção, o tubo germinativo do patógeno cresce sobre a superfície foliar e um apressório se forma sobre a estrutura 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) de cultivares susceptíveis, e a colonização sistêmica progride com o desenvolvimento de haustórios e colonização da região meristemática (YEH e

FREDERIKSEN, 1980). As hifas atingem o meristema apical da planta e invadem as folhas e flores em desenvolvimento, deixando a planta estéril. Podem-se observar os sintomas sete dias após a infecção. Quando a infecção acontece em cultivares resistentes, necroses são encontradas nos locais de penetração (MAUNCH-MANI et al., 1989).

Na fase sexual, após a fusão do oogônio com o anterídio, no mesófilo do hospedeiro, há o desenvolvimento do oósporo (SAFEEULLA e THIRUMALACHAR, 1955). Os oósporos são produzidos pelo patógeno em plantas hospedeiras quando há uma estação seca bem definida e podem permanecer viáveis no solo e em laboratório por vários anos (SAFEEULLA e SHETTY, 1978). Os oósporos são estruturas de resistência produzidas no interior das folhas infectadas, sendo esféricos, com diâmetro entre 31 e 37 μm , com camada externa de cor amarelo-alaranjada e espessura entre 1 e 3 μm (WESTON e UPPAL, 1932). Quando as folhas se rasgam por ação do vento ou qualquer outro fator os oósporos são liberados e podem permanecer no solo, constituindo fonte de inóculo para o próximo plantio, ou podem ser transportados por homens ou animais (WILLIAMS, 1984). As condições ideais para o desenvolvimento dos oósporos são temperatura mínima de 10°C e baixa umidade do solo, com temperatura ideal em torno dos 18 °C e umidade próxima de 100% (CRAIG, 1987).

Os oósporos são produzidos em grandes quantidades por isolados que infectam o sorgo e o milho (BOCK et al., 1997), e raramente por isolados que infectam apenas o milho (ADENLE e CARDWELL, 2000). A disponibilidade de hospedeiro o ano inteiro faz com que o sucesso do patógeno não dependa da produção de estruturas de resistência (WILLIAMS, 1984). A produção de oósporos segue um padrão monocíclico, enquanto a produção de conídios pode seguir um padrão policíclico, sendo que ambas as estruturas de reprodução têm a capacidade de causar infecção sistêmica (Figura 1).

No campo, para ocorrer infecção pelo patógeno, é necessário um período com alta umidade e temperatura entre 10 e 30°C por quatro horas (BONDE et al., 1978), condições essas ideais tanto para produção de conídios quanto de oósporos.

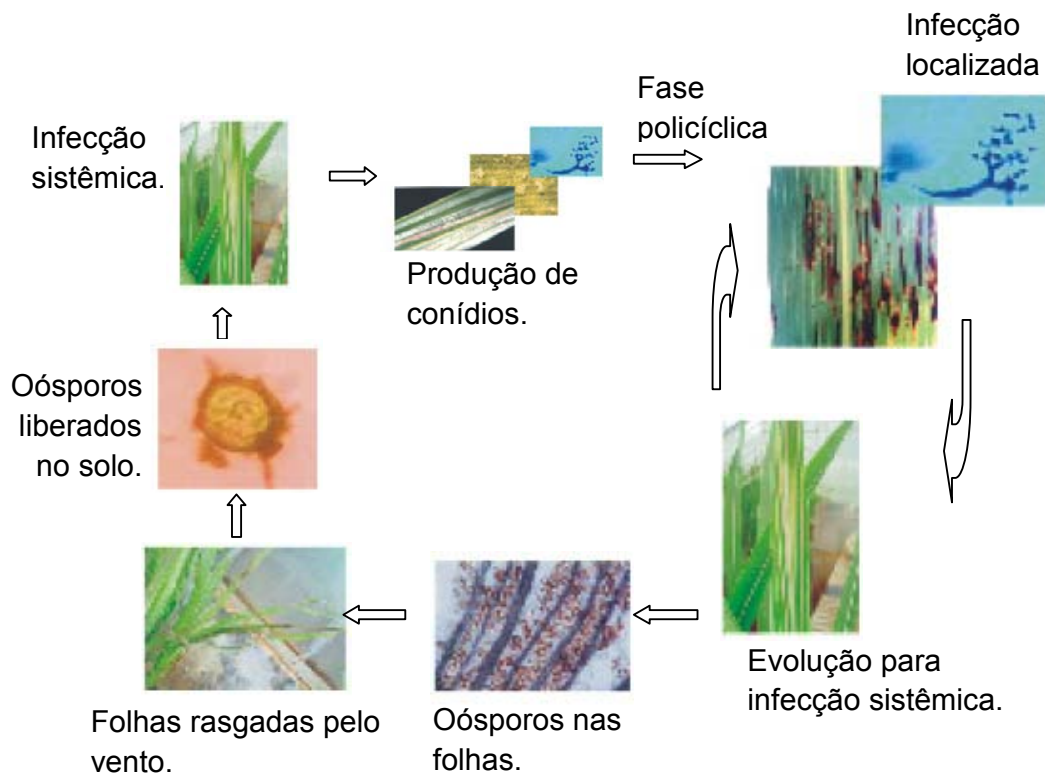


Figura 1: Ciclo de vida do *Peronosclerospora sorghi* (BARBOSA, 2006).

2.6. Sintomatologia

Os sintomas da doença se manifestam sete dias após a infecção, podendo ser sistêmicos ou localizados. Em cultivares resistentes, necroses ocorrem no local da penetração (MAUNCH-MANI et al., 1989). Os sintomas sistêmicos são caracterizados por estrias verdes e cloróticas paralelas em decorrência do desenvolvimento das hifas de infecção. As hifas atingem o meristema apical da planta e invadem as flores e folhas em desenvolvimento (MAUNCH-MANI et al., 1989). Em condições ideais, como temperatura amena e alta umidade, há formação de uma massa branca na porção abaxial foliar (Figura 2 - centro, setas claras), que consiste de conídios e conidióforos de *P. sorghi*.

A presença ou ausência de conídios e conidióforos é a característica usada na fenotipagem de plantas inoculadas com o *P. sorghi*, sendo que as plantas que não formam conídios nas suas folhas são classificadas como

resistentes ao patógeno, enquanto que as plantas com formação de conídios e conidióforos nas folhas são consideradas susceptíveis ao patógeno. Em estádios avançados da infecção sistêmica, as folhas se rasgam pela ação do vento e os oósporos são liberados infestando o solo, podendo iniciar novo ciclo infeccioso.

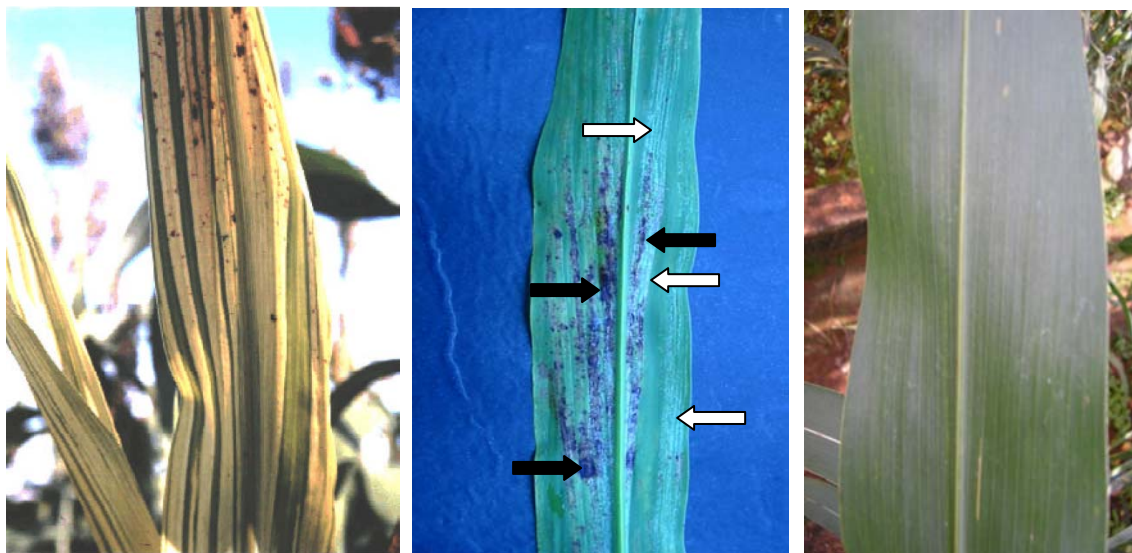


Figura 2: Folhas de sorgo contaminadas com *P. sorghi* e folha sadia. Na imagem da esquerda estão os sintomas sistêmicos. Na imagem central, as setas claras indicam o local da esporulação enquanto que as setas escuras mostram os sintomas locais. À direita uma folha sadia é mostrada.

A infecção localizada caracteriza-se por manchas cloróticas retangulares limitadas pelas nervuras laterais, que podem apresentar crescimento pulverulento branco na porção abaxial foliar (Figura 2 - centro) em condições de alta umidade e temperatura amena.

2.7. Genética da resistência ao míldio

A resistência das plantas aos patógenos depende tanto da constituição genética do patógeno quanto do hospedeiro (SANTOS, 2003). A teoria gene-a-gene proposta por FLOR (1942), segundo a qual para cada gene de resistência na planta existe um gene de avirulência no patógeno, forma a base dessa afirmativa. Esta relação tem sido proposta para vários sistemas de estudo de doenças em plantas (THOMPSON e BURDON, 1992).

A resistência vertical é encontrada quando a interação patógeno-hospedeiro condiciona uma reação de resistência no hospedeiro e essa reação é controlada, na maioria das vezes, por um gene de resistência na planta (VAN DER PLANK, 1968). Há possibilidade de haver resistência somente a uma parte da população do patógeno, ou resistência raça específica (McDONALD e LINDE, 2002). A resistência que atua de maneira mais uniforme contra mais de uma raça do patógeno é chamada de resistência horizontal (VAN DER PLANK, 1968), porém essa resistência fornece uma proteção incompleta ao hospedeiro e é determinada por mecanismos que dificultam o desenvolvimento do patógeno nos tecidos da planta (VAN DER PLANK, 1968). Na maioria das vezes, a resistência vertical vem acompanhada de uma resistência horizontal (VAN DER PLANK, 1968). A resistência a *P. sorghi*, freqüentemente, se expressa como uma incompatibilidade fisiológica entre hospedeiro e patógeno, sendo esse tipo de resistência, na maioria das vezes, caracterizada por herança oligogênica horizontal (CRAIG e ODVODY, 1992).

Estudos têm mostrado que a resistência ao míldio em sorgo é condicionada por um ou poucos gene(s) dominante(s). GOWDA (1995), utilizando apenas duas fontes de resistências (BTx623 e SC414-12) e as raças 1, 2 e 3 de *P. sorghi* (Tabela 1), descreveu que a herança da resistência ao míldio seria condicionada por um gene dominante de efeito maior e por outros genes de efeito fenotípico mais discreto. Esse mesmo autor mostrou que Tx623 e SC414-12 possuem genes de resistência distintos. PUTTARUDRAPPA et al. (1972) sugeriram que dois genes complementares nos cultivares IS84 e IS2941 são necessários para conferir resistência a isolados de *P. sorghi* originados da Índia. BHAT (1981), em trabalho realizado com isolados de *P. sorghi* também da Índia, concluiu que um gene dominante primário com mais um ou dois genes que complementam a sua ação controlam a resistência ao míldio em sorgo na linhagem QL-3.

CRAIG e SCHERTZ (1985) mostraram que a resistência ao míldio para as três raças de *P. sorghi* (Tabela 1) na linhagem SC414-12 era condicionada a um único gene dominante, enquanto na linhagem QL-3 essa característica era controlada por um ou dois genes dominantes. Em contra partida, outros pesquisadores propuseram a hipótese de que a linhagem de sorgo QL-3 possui dois genes dominantes condicionando a resistência ao míldio, enquanto a

linhagem SC414-12 possui um ou dois genes dominantes controlando a resistência às mesmas três raças (SIFUENTES e FREDERIKSEN, 1988; REDDY et al., 1992).

As divergências desses trabalhos podem ser explicadas, pelo menos em parte, pela utilização de metodologias diferentes na avaliação da doença, pela utilização de diferentes seleções das linhagens, que podem ser geneticamente heterogêneas, ou também por diferenças genéticas entre as raças originadas de regiões geograficamente muito distantes (CRAIG e ODVODY, 1992). Entretanto, de forma geral os estudos mostram que a resistência ao *P. sorghi* nas linhagens QL-3, BTx623 e SC414 é, na maioria das vezes, constituída por dois genes de resistência horizontal e, freqüentemente, acompanhada por mais genes de resistência vertical.

As diferenças genéticas entre as raças de *P. sorghi* requerem buscas por fontes de resistência que melhor se adéquem às necessidades dos produtores. Além disso, a busca de uma resistência ampla e duradoura faz-se necessária. Uma ferramenta que auxiliará a introdução da resistência ao míldio nos programas de melhoramento de sorgo é a identificação de marcadores moleculares associados com a resistência às diferentes raças de *P. sorghi*.

2.8. Mapeamento genético para resistência ao míldio do sorgo

Alguns marcadores moleculares foram identificados como associados aos genes de resistência para as raças 1, 2 e 3 de *P. sorghi*. Utilizando a população IS3620C x BTx623, dois marcadores RFLP, Txs1053 e Txs1092(2), foram mapeados no cromossomo 3 do sorgo, a 12 e 14 cM respectivamente de um gene de resistência derivado da linhagem BTx623. Foram também identificados marcadores ligados a um gene de resistência em uma população de mapeamento derivada da linhagem resistente SC414-12. Entretanto, esse gene é diferente do gene de resistência presente na linhagem BTx623 (GOWDA et al., 1995), nesse mesmo trabalho, utilizando 675 *primers* RAPD em uma população F₂ originada do cruzamento entre as linhagens contrastantes RTx7078 x SC414-12, foram identificados os marcadores OPQ8 e PAL1 ligados a 9,5 e 13,5 cM, respectivamente, do gene de resistência ao

míldio do sorgo. Contudo, esses marcadores não flanqueiam o gene de resistência.

Um gene candidato para resistência ao míldio em sorgo derivado da linhagem BTx623 foi mapeado no cromossomo 3 e identificado como o gene que codifica a síntese da enzima fenilalanina amônia-liase (PAL; EC 4.3.1.5) (CUI et al., 1996), a primeira enzima regulatória da via de síntese de fenilpropanóides (RHODES, 1994). Esses compostos entram na formação da parede celular e podem conferir às plantas uma proteção contra a invasão de patógenos, uma vez que o aumento da parede celular secundária das plantas promovido pela enzima PAL forma uma barreira contra a proliferação desses patógenos. OH et al (1996) mapearam dois marcadores RFLP (pSbTXS552 e pSbTXS361) a 5,0 e 7,9 cM, respectivamente, de um possível gene de resistência ao míldio na linhagem SC325, que é resistente às raças 1 e 3.

O presente trabalho visou estabelecer as bases para o mapeamento genético da resistência ao míldio do sorgo, de maneira que programas de seleção assistida possam ser implementados visando a introdução de fontes de resistência em linhagens elite de sorgo.

3. OBJETIVOS

- a) Identificação de linhagens de sorgo (*Sorghum bicolor*) resistentes a seis raças de *Peronosclerospora sorghi*, endêmicas no Brasil.
- b) Caracterizar a herança da resistência ao míldio em diferentes genótipos de sorgo.
- c) Diferenciar os genes de resistência presentes nas linhagens de sorgo identificadas neste trabalho como resistentes ao míldio.
- d) Avaliar fenotípicamente uma população endogâmica (RIL) de mapeamento para identificar genes para resistência ao míldio do sorgo.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Linhagens de sorgo e seus cruzamentos

Treze linhagens de sorgo pertencentes ao programa de melhoramento da Embrapa Milho e Sorgo, SC414-12, QL-3, BTx623, BR501, ARG-1, Tx430, IS3620C, ATF54B, ATF14B, BR007, BR012, SC283, CMSXS180R, foram utilizadas para a identificação do comportamento quanto à resistência e susceptibilidade a nove raças de míldio do sorgo.

Uma vez identificadas as linhagens de sorgo resistentes e susceptíveis, aquelas resistentes (R) às nove raças de *P. sorghi* foram cruzadas com uma mesma fonte susceptível (S) comum, também às nove raças, ATF14B. A geração F₁ de cada cruzamento foi autofecundada gerando populações F₂ compostas por 150 indivíduos. Foram também realizados cruzamentos dialélicos entre as fontes de resistência identificadas neste trabalho, totalizando 10 cruzamentos (Tabela 2). Os indivíduos F₁ de cada cruzamento foram autofecundados, gerando-se populações F₂ de aproximadamente 150 indivíduos.

Tabela 2: Relação dos cruzamentos dialélicos, sendo que x indica que o cruzamento foi realizado.

Linhagens	SC414-12	QL-3	ARG-1	Tx430
BTx623	X	x	x	X
SC414-12		x	x	X
QL-3			x	X
ARG-1				X

4.2. População de linhagens recombinantes (RILs)

Uma população de linhagens recombinantes (RIL) composta por 121 linhagens derivadas do cruzamento entre BTx623 e IS3620C foi avaliada quanto à resistência e susceptibilidade contra nove raças do agente causal do míldio do sorgo, para os quais as linhagens parentais foram contrastantes. Essa população foi cedida pelo Dr. Robert Klein do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA/ARS, 2881 F&B Road, College Station Tx 77845). A utilização dessa população é estratégica por ser a população de referência para mapeamento genético em sorgo, o que facilitará o mapeamento de genes de resistência para diferentes raças do míldio.

4.3. Raças de *Peronosclerospora sorghi* utilizadas

Neste trabalho foram utilizadas nove raças do patógeno *P. sorghi* (04A, 16A, 18A, 20A, 22A, 22B, 20C, 22C, 22F). As nove raças foram previamente identificadas com o uso de linhagens diferenciadoras em um trabalho conduzido por BARBOSA (2004) no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Milho e Sorgo e classificadas de acordo com um sistema proposto por Casela (comunicação pessoal) para a nomenclatura de raças deste patógeno nas condições brasileiras, sendo verificada apenas a presença ou ausência de esporulação nas plantas de sorgo para classificação das plantas como resistentes ou susceptíveis.

Por ser *P. sorghi* um patógeno biotrófico, as raças em estudo são mantidas *in vivo* no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Milho e Sorgo, através de inoculações sucessivas na linhagem suscetível SC283.

4.4. Avaliação fenotípica para resistência ao míldio do sorgo

As nove raças (04A, 16A, 18A, 20A, 22A, 22B, 20C, 22C e 22F) de *P. sorghi* foram utilizadas para identificação de fontes de resistência e susceptibilidade ao míldio nas 13 linhagens de sorgo. Porém, na avaliação da população de RILs e das populações F₂ geradas a partir dos cruzamentos dialélicos e dos cruzamentos entre as fontes de resistência e susceptibilidade, foram utilizadas somente seis raças (04A, 16A, 18A, 20A, 22A, 22B). Essas raças foram selecionadas por apresentarem maior virulência, ou seja, eles são capazes de infectar um número maior de genótipos de sorgo. Buscou-se com isso explorar ao máximo a variabilidade genética do patógeno, dado o grande número de indivíduos a serem avaliados nas várias populações de sorgo.

Para a realização das inoculações, sementes de cada linhagem foram germinadas em placas de Petri contendo papel de filtro umedecido e mantidas a 32°C, em estufa, por dois dias. As plântulas foram transferidas, duas a duas, para copos de plástico de 100 mL preenchidos com terra. Bandejas com 30 copos foram mantidas em casa de vegetação durante sete dias até a data da inoculação (Figura 3a-d).

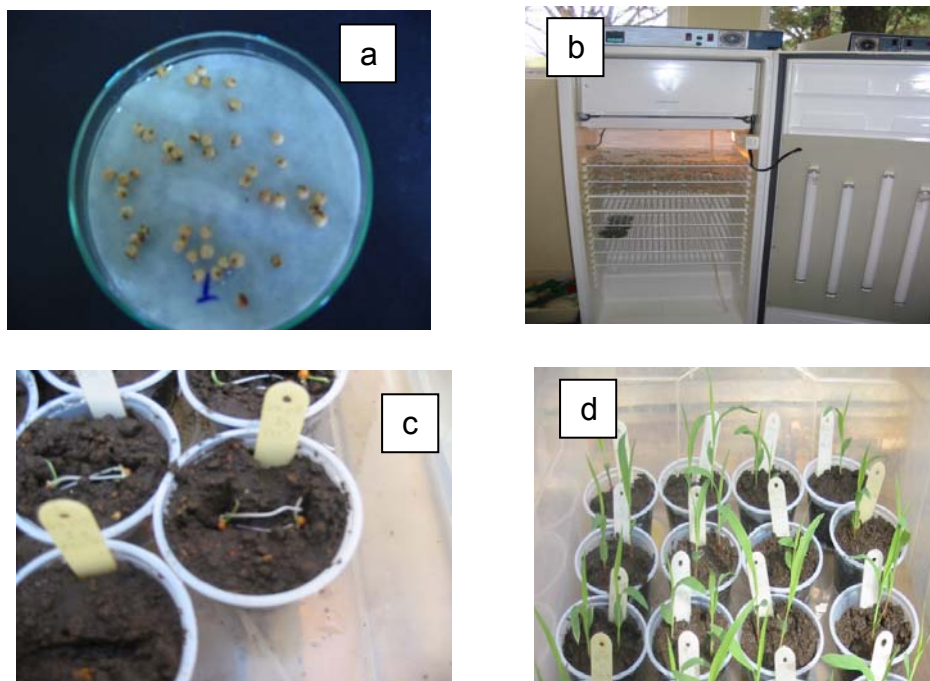


Figura 3: Germinação das sementes de sorgo e manutenção das plântulas até a inoculação: a) Germinação das sementes em placa de petri; b) Câmara de germinação;c) Plantio; d) Copos de plástico acomodados nas bandejas.

Os isolados de *P. sorghi* foram colocados sob luz durante a noite anterior à inoculação em uma sala especial, para se estimular a produção de conídios. No dia da inoculação (sete dias após o plantio) as folhas de SC283 foram coletadas e depositadas em recipientes contendo água. Foi feita uma lavagem nas folhas coletadas com água destilada, evitando-se contaminação por conídios ou oósporos de outros isolados. Adicionou-se água nas bandejas contendo os 30 vasos, a fim de aumentar a umidade no momento da inoculação. As bandejas foram cobertas por uma tela que serviu de suporte para as folhas infectadas com *P. sorghi*. Posteriormente, as folhas que cobriram a bandeja foram cobertas por duas camadas de papel de germinação umedecido e, finalmente, por um plástico fino (Figura 4a - d).

Para uma maior eficiência de infecção as, as bandejas foram colocadas em câmara refrigerada a 18°C e com alta umidade. Após seis horas, com auxílio de um compressor de ar, uma ventilação suave foi ligada dentro da bandeja por outras seis horas, fazendo com que os conídios se desprendessem das folhas na superfície da bandeja e se depositassem nas plantas no fundo do recipiente (Figura 4e - f). As condições de inoculação

foram desfeitas e as bandejas foram levadas para a casa de vegetação (Figuras 4g - h).

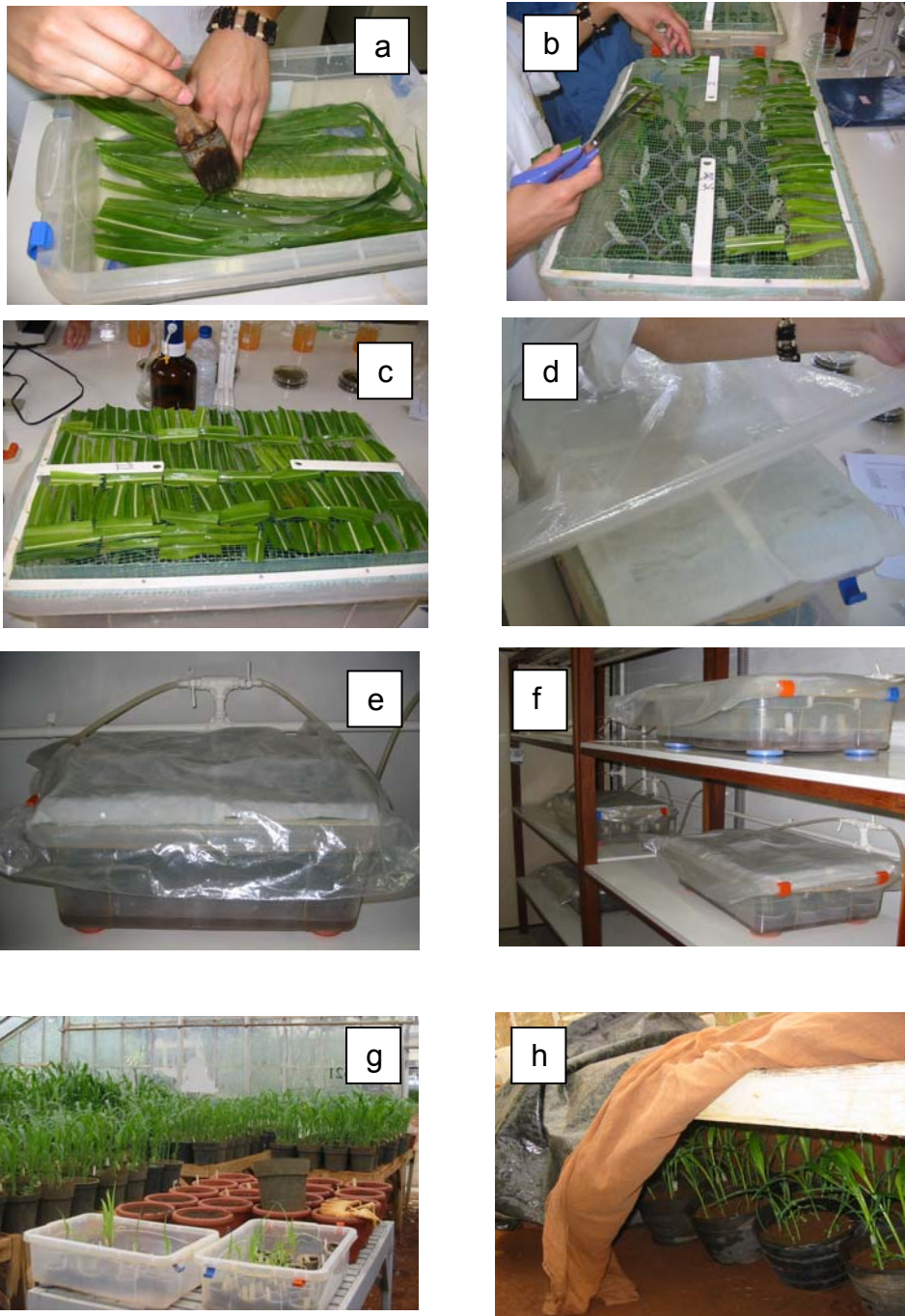


Figura 4: Inoculação e manutenção das plantas em casa de vegetação: a) Lavagem das folhas contendo os conídeos; b e c) Bandeja coberta com tela e com as folhas; d) Cobertura das bandejas com papel toalha umedecido e plástico; e) Bandeja com os tubos de ventilação; f) Bandejas acomodadas na câmara de inoculação; g) Bandejas na casa de vegetação; h) Câmara úmida que precede a avaliação.

A fenotipagem foi realizada dez dias após a inoculação, com um período de 18 horas em câmara úmida que antecedia cada avaliação fenotípica. As

plantas que apresentaram formação de uma massa branca na parte abaxial das folhas, isto é, formação de conídios e conidióforos, foram classificadas como susceptíveis, enquanto que as plantas sem essa característica foram classificadas como resistentes. (Figura 5).



Figura 5: Comparação entre folhas inoculadas com *P. sorghi*. a) Folha de uma linhagem resistente, b) Folha de uma linhagem susceptível, c) detalhe da esporulação da figura b.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização das linhagens de sorgo quanto à resistência às raças de *P. sorghi*

A Tabela 4 apresenta a reação das 13 linhagens de sorgo às nove raças de *Peronosclerospora sorghi*, das quais cinco linhagens (SC414-12, BTx623, QL-3, ARG-1 e Tx430) se destacaram como resistentes às nove raças do patógeno identificadas no país. Como no presente trabalho não houve avaliação da severidade da doença, ou seja, foi avaliada apenas a presença ou ausência de esporulação nas plântulas, não se pode caracterizar a resistência horizontal. A ausência da esporulação na avaliação das plântulas evidencia a resistência vertical presente na cultivar avaliada.

Acho que está meio fora de lugar. Outra possibilidade é a existência de um conjunto de genes que confere resistência específica às diferentes raças, sendo uma resistência vertical às várias raças de *P. sorghi*. Da mesma forma.

Duas linhagens (ATF14B e SC283) foram susceptíveis a todas as nove raças. Como a linhagem ATF14B é derivada das linhagens SC283 (susceptível

às nove raças de *P. sorghi*) e BR007 (susceptível a cinco das nove raças), provavelmente ATF14B herdou os alelos de susceptibilidade da linhagem SC283. A participação da linhagem ATF14B na formação de híbridos comerciais do programa de melhoramento genético da Embrapa foi o motivo por essa ter sido selecionada como parental susceptível para os cruzamentos a serem utilizados nos estudos de herança da resistência ao míldio.

Tabela 4: Resposta de resistência e susceptibilidade de 13 linhagens de sorgo a nove raças de *Peronosclerospora sorghi*.

Linhagens	Raças de <i>Peronosclerospora sorghi</i>								
	04A	16A	18A	20A	22A	22B	20C	22C	22F
SC414-12	R	R	R	R	R	R	R	R	R
QL-3	R	R	R	R	R	R	R	R	R
BTx623	R	R	R	R	R	R	R	R	R
ARG-1	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Tx430	R	R	R	R	R	R	R	R	R
BR501	R	R	R	R	R	S	S	R	R
ATF54B	S	S	R	R	S	S	R	R	S
IS3620C	S	S	S	S	S	S	R	R	R
CMSX180R	R	S	S	S	S	S	R	R	R
BR007	S	S	R	S	S	S	R	R	R
BR012R	S	S	S	R	S	S	R	R	S
ATF14B	S	S	S	S	S	S	S	S	S
SC283	S	S	S	S	S	S	S	S	S

R = Resistente; S = Susceptível.

As outras seis linhagens apresentaram reações diferenciadas para as diversas raças (Tabela 4). Note que neste trabalho as raças 20C e 22B apresentam a característica de induzir a esporulação no híbrido BR501, portanto as raças 20C e 22B são considerados como representantes da “raça 4”.

As linhagens ATF54B, CMSX180R e BR007 apresentaram resistência a apenas quatro raças. A linhagem ATF54, assim como ATF14B, é derivada de SC283 x BR007, porém a linhagem ATF54B parece ter herdado os alelos de susceptibilidade da linhagem BR007, pois apresenta reações de resistência/susceptibilidade semelhantes à BR007 com exceção apenas para as raças 20A e 22F.

Já a linhagem CMSX180R foi resistente às raças 04A, 20C, 22C e 22F, enquanto BR007 foi resistente às raças 18A, 20C, 22C e 22F. As linhagens

IS3620C e BR012 apresentaram resistência a apenas três raças, sendo que IS3620C foi resistente às raças 20C, 22C e 22F, e BR012 foi resistente às raças 20A, 20C e 22C.

Esses resultados evidenciam uma resistência vertical de amplo espectro nas linhagens SC414-12, Tx430, QL-3, BTx623 e ARG-1, não podendo ser descartada a hipótese de haver vários genes raças específicos formando um bloco gênico determinando resistência a todas as raças estudadas; Uma possibilidade é o envolvimento de r genes de resistência horizontal como descrito por VAN DER PLANK (1968), embora o presente trabalho não tenha avaliado esse tipo de reação.

5.2. Caracterização da herança da resistência ao míldio em sorgo

As cinco fontes de resistência a todas as nove raças de *P. sorghi* (SC414-12, BTx623, Tx430, QL-3 e ARG-1) foram cruzadas com a fonte de susceptibilidade comum, ATF14B, sendo avaliadas contra as seis raças (04A, 16A, 18A, 20A, 22A e 22B) (Tabela 5).

Como na literatura a maioria dos relatos sugere a existência de um ou dois genes que controlam a resistência ao míldio (PUTTARUDRAPPA et al., 1972; BHAT, 1981; CRAIG e SCHERTZ, 1985; SIFUENTES e FREDERIKSEN, 1988; REDDY et al., 1992; GOWDA et al., 1995), foram testadas as hipóteses de segregação de um e de dois genes dominantes para resistência ao míldio nas populações F_2 derivadas do cruzamento das várias fontes de resistência com a ATF14B, susceptível a todas as raças de míldio do Brasil. Para se testar a herança monogênica dominante se espera uma taxa de segregação de 3 (resistente):1 (susceptível). A hipótese da presença de dois genes dominantes independentes foi testada pela frequência esperada de 15 plantas resistentes para uma susceptível. O ajuste das taxas de segregação observadas às proporções esperadas foi testado pelo teste de qui-quadrado com nível de significância de 5% e um grau de liberdade (Tabela 5).

Tabela 5: Ajuste da segregação observada para o modelo de um (3:1) ou dois (15:1) genes dominantes de resistência nas populações F₂ originadas dos cruzamentos das fontes resistentes aos nove raças de *P. sorghi* com a linhagem susceptível ATF14B pelo teste de qui-quadrado.

Cruzamento	Raça	Nº Observado		χ^2 (3:1)	χ^2 (15:1)	P(3:1)	P(15:1)
		R	S				
SC414-12 X ATF14B	04A	129	6	30,4	0,75	0,0	38,6
	16A	133	5	33,6	1,62	0,0	20,2
	18A	129	13	19,0	2,04	0,0	15,3
	20A	129	14	17,6	3,05	0,0	8,0
	22A	140	5	35,9	1,94	0,0	12,3
	22B	136	5	34,6	1,75	0,0	18,4
BTx623 X ATF14B	04A	139	5	35,6	1,89	0,0	16,9
	16A	139	7	31,8	0,52	0,0	46,7
	18A	132	12	21,3	1,06	0,0	30,2
	20A	135	7	30,5	0,42	0,0	51,5
	22A	129	7	28,6	0,28	0,0	59,5
	22B	139	5	35,6	1,89	0,0	21,9
Tx430 X ATF14B	04A	141	8	30,6	0,19	0,0	65,7
	16A	137	11	24,4	0,35	0,0	55,3
	18A	133	12	21,6	1,01	0,0	31,4
	20A	132	6	31,4	0,85	0,0	36,6
	22A	122	9	23,0	0,08	0,0	76,9
	22B	135	7	30,5	0,42	0,0	51,6
QL-3 X ATF14B	04A	121	29	2,5	43,8	10,8	0,0
	16A	118	28	2,6	41,7	10,4	0,0
	18A	111	25	3,17	34,2	7,4	0,0
	20A	114	26	3,08	36,3	7,9	0,0
	22A	98	25	1,43	41,6	23,1	0,0
	22B	105	27	1,45	45,5	22,7	0,0
ARG-1 X ATF14B	04A	123	31	1,94	50,6	16,2	0,0
	16A	131	35	1,35	68,2	24,4	0,0
	18A	118	28	2,63	41,6	10,4	0,0
	20A	121	30	2,12	47,8	14,5	0,0
	22A	105	27	1,45	45,5	22,7	0,0
	22B	112	29	1,47	49,3	22,4	0,0

Valores de χ^2 tabelado a 5 e 1% 3,841 e 6,635, respectivamente.

As populações F₂ obtidas do cruzamento entre ATF14B e as linhagens SC414-12, BTx623 e Tx430 apresentaram resultados condizentes com a segregação 15:1, sugerindo que cada uma delas possui dois genes dominantes independentes que conferem resistência para cada uma das seis raças de *P. sorghi* (Tabela 5). Tais resultados corroboram com os dados de PUTTARUDRAPPA et al. (1972) para a resistência, nas linhagens IS84 e IS2941, à raças identificados na Índia. Entretanto, SIFUENTES e

FREDERIKSEN (1988) e REDDY et al. (1992) sugeriram a presença de um ou dois genes controlando a resistência ao míldio em SC414-12. Por outro lado, CRAIG e SCHERTZ (1985) demonstraram que na linhagem SC414-12, um único gene dominante condiciona a resistência às raças 1, 2 e 3 de *P. sorghi*.

Para as linhagens QL-3 e ARG-1, a hipótese que melhor se ajustou foi a da existência de um gene dominante conferindo resistência para cada uma das raças testadas, condizente com a segregação 3:1 nas populações F₂ (Tabela 5). Os resultados encontrados para a linhagem QL-3 são divergentes aos encontrados na literatura, porém, de fato não há um consenso em relação ao número de genes de resistência presentes nessa linhagem. Enquanto SIFUENTES e FREDERIKSEN (1988) e REDDY et al. (1992) afirmaram que QL-3 possui dois genes dominantes de resistência às raças 1, 2 e 3 de *P. sorghi*, CRAIG e SCHERTZ (1985) mostraram que a resistência nessa linhagem era condicionada por um ou dois genes dominantes para as mesmas raças. Já com raças da Índia, BHAT (1981) concluiu que, além de um gene dominante de resistência ao míldio na linhagem QL-3, um ou dois genes adicionais são necessários para complementar a ação do gene maior. Algumas dessas divergências podem, em parte, ser explicadas pelas diferenças entre as raças avaliadas por BHAT (1981), CRAIG e SCHERTZ (1985) e no presente trabalho.

Tabela 6: Linhagens de sorgo resistentes aos seis raças de *P. sorghi* e os respectivos números de genes de resistência ao míldio identificados com base no cruzamento com a linhagem sensível ATF14B.

Linhagens	Número de genes de resistência
SC414-12	2
BTx623	2
Tx430	2
QL-3	1
ARG-1	1

5.3. Diferenciação dos genes de resistência presentes nas linhagens de sorgo

Uma vez determinado o provável número de genes de resistência presente em cada fonte, partiu-se para elucidar a diversidade genética para controle da característica nessas linhagens. Com essa finalidade, foram

avaliadas as populações F_2 derivadas dos cruzamentos dialélicos entre as cinco linhagens resistentes a todas as raças do *P. sorghi*, SC414-12, QL-3, BTx623, ARG-1 e Tx430 (Tabela 3). Em uma população F_2 com 150 indivíduos derivados do cruzamento de duas linhagens resistentes, cada uma com apenas um gene dominante de resistência, são identificados com probabilidade maior que 90% genes diferentes ligados a uma frequência de recombinação igual a 25% (ou 27,5 cM pela função de KOSAMBI, 1944). Para se obter essa estimativa foi utilizada a fórmula: $P(aabb) = 1 - (1 - 0,25r^2)^N$. Onde $P(aabb)$ é a probabilidade de se encontrar um indivíduo duplo recessivo, portanto susceptível ao míldio; r é a frequência de recombinação e N é o tamanho da população (HALDANE e WADDINGTON, 1931). Foram testados, por essa equação, tamanhos de população de 50, 80, 100, 120 e 150 indivíduos, que estão apresentadas graficamente na Figura 6.

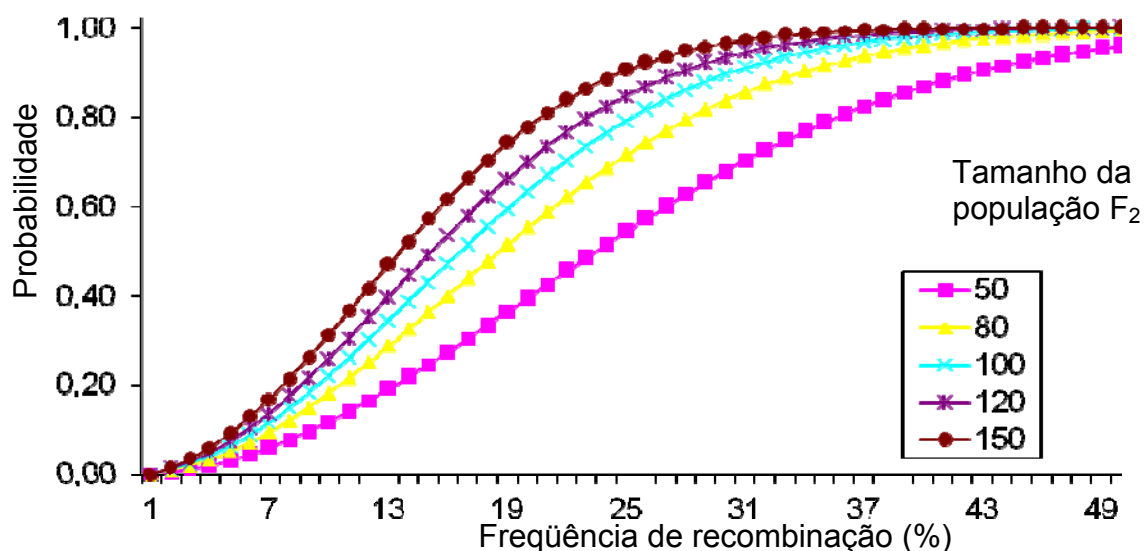


Figura 6: Probabilidade de se detectar pelo menos um indivíduo duplo recessivo em diversos tamanhos de populações F_2 originadas de uma F_1 em repulsão.

Na população F_2 (ARG-1B x QL-3), originada de parentais que possuem apenas um gene dominante de resistência cada, não foram identificadas plantas susceptíveis para nenhuma das raças inoculadas. Portanto ARG-1 e QL-3 possuem apenas um gene de resistência cada (Tabela 6), havendo grande possibilidade de que elas apresentem o mesmo gene de resistência.

Tabela 7: Ajuste da segregação observada para um modelo de dois (15:1) ou três (63:1) genes nas populações F₂ provenientes dos cruzamentos dialélicos para os diferentes raças pelo teste qui-quadrado.

Cruzamento de origem (nº genes)	Pat.	Observado		χ^2 (15:1)	χ^2 (63:1)	P(15:1)	P(63:1)
		R	S				
SC414-12 (2) X BTx623 (2)	04A	118	12	0,23	49,70	62,83	0,00
	16A	119	11	0,50	40,30	48,08	0,00
	18A	127	13	2,87	54,30	9,03	0,00
	20A	121	7	2,37	12,70	12,39	0,00
	22A	118	9	1,67	25,20	19,57	0,00
	22B	117	12	0,00	50,20	83,30	0,00
SC414-12 (2) X QL-3 (1)	04A	139	3	4,15	0,28	4,17	59,74
	16A	133	4	2,59	1,64	10,73	20,01
	18A	134	5	1,67	3,74	19,60	5,31
	20A	131	6	0,82	7,07	36,58	0,78
	22A	140	5	1,19	3,35	16,33	6,71
	22B	146	4	3,29	1,19	6,98	27,55
BTx623 (2) X QL-3 (1)	04A	121	12	1,75	48,12	18,65	0,00
	16A	131	14	2,87	61,70	9,03	0,00
	18A	117	12	2,05	50,24	15,21	0,00
	20A	119	13	2,92	58,90	8,76	0,00
	22A	118	9	0,15	25,20	69,66	0,00
	22B	121	10	0,42	31,40	51,56	0,00
BTx623 (2) X ARG-1 (1)	04A	123	13	8,50	56,50	11,09	0,00
	16A	130	10	0,19	28,30	66,25	0,00
	18A	120	13	2,82	58,30	9,31	0,00
	20A	117	12	2,05	50,20	15,21	0,00
	22A	130	14	2,96	62,30	8,52	0,00
	22B	120	12	1,80	48,60	17,75	0,00
SC414-12 (2) X ARG-1 (1)	04A	118	12	1,97	49,70	16,03	0,00
	16A	119	11	1,09	40,30	29,75	0,00
	18A	127	13	2,20	54,30	13,78	0,00
	20A	121	7	0,13	12,70	71,50	0,04
	22A	118	9	0,15	25,20	69,69	0,00
	22B	117	12	2,05	50,24	15,21	0,00
Tx430 (2) X ARG-1 (1)	04A	127	13	2,20	54,30	13,78	0,00
	16A	120	13	2,82	58,30	9,31	0,00
	18A	131	10	0,17	28,03	67,95	0,00
	20A	140	8	0,18	14,20	67,12	0,02
	22A	133	14	2,69	60,60	10,11	0,00
	22B	129	12	1,23	44,30	26,74	0,00
Tx430 (2) X SC414-12 (2)	04A	118	9	0,15	25,20	69,69	0,00
	16A	121	9	0,10	24,30	75,12	0,00
	18A	120	13	2,82	58,30	9,31	0,00
	20A	119	11	1,09	40,20	29,75	0,00
	22A	120	13	2,82	58,30	9,31	0,00
	22B	132	14	2,78	61,20	9,56	0,00
Tx430 (2) X QL-3 (1)	04A	139	4	2,90	1,68	8,81	19,48
	16A	135	3	3,91	0,34	4,79	56,25
	18A	134	4	2,64	1,60	10,38	20,57
	20A	118	4	1,84	2,34	17,52	12,64
	22A	121	3	3,11	0,59	7,80	44,17
	22B	133	5	1,71	3,81	19,04	5,09

Outra possibilidade é que os genes de resistência sejam distintos, mas ligados a uma distância menor que 27,5 cM ($r=0,25$), a partir da qual a probabilidade de se encontrar plantas susceptíveis em uma população de 150 indivíduos, torna-se menor que 90%. As hipóteses foram testadas pelo qui-quadrado com nível de significância de 5% e um grau de liberdade com χ^2 tabelado em 3,841 (Tabela 7).

Para a população F_2 obtida do cruzamento entre BTx623 e Tx430, que possuem dois genes dominantes de resistência cada, também não foram identificadas plantas susceptíveis. Para o modelo de dois genes de resistência diferentes, presentes em cada uma dessas linhagens, se esperariam a taxa de uma planta susceptível para cada 256 plantas avaliadas, com essa frequência a probabilidade de se encontrar uma planta com genótipo duplo recessivo em uma população de 150 indivíduos é 0,22%.

Nesse caso, não se pode afirmar que os genes de resistência entre essas linhagens são os mesmos ou não. No entanto, em função do limite do tamanho populacional pode-se sugerir que BTx623 e BTx430 possuem pelo menos um desses genes em comum, ou que eles estejam ligados a uma distância menor que 27,5 cM, ou ainda que os quatro genes sejam diferentes. Foram identificadas reações diferenciais para as raças 1, 2 e 3 de *P. sorghi* usando as linhagens BTx623 e Tx430 (CRAIG e FREDERIKSEN, 1980; CRAIG e FREDERIKSEN, 1983), o que poderia confirmar que eles teriam pelo menos um gene distinto de resistência. No entanto, a diferença se deve à presença da raça III que ainda não foi descrita no Brasil.

Para os outros cruzamentos onde foram detectadas plantas susceptíveis (Tabela 7), foram testadas duas hipóteses de segregação, pois as fontes selecionadas possuem um ou dois genes de resistência (Tabela 6). A primeira hipótese leva em consideração que as fontes possuem um gene dominante de resistência e que esse gene é diferente entre essas fontes, portanto a segregação esperada é de 15:1, sendo testado o modelo $AAbb \times aaBB$ no genótipos dos parentais para resistência. A segunda hipótese testada verificou a possibilidade da existência de três genes de resistência distintos e independentes na F_2 , portanto a segregação esperada seria de 63 indivíduos resistentes para um susceptível, com o modelo de genótipo $AABBcc \times aabbCC$

nos parentais. A probabilidade de sucesso na avaliação da proporção de 63:1 seria em torno de 90%, em uma população de 150 indivíduos. Não foi testada a hipótese quatro genes diferentes estarem segregando (255:1), uma vez que a probabilidade de se encontrar uma planta homocigota recessiva é muito baixa (0,22%) para uma população de 150 indivíduos.

As populações F_2 provenientes dos cruzamentos entre as linhagens que possuem dois genes dominantes de resistência (SC414-12 x BTx623 e SC414-12 x Tx430) apresentaram um ajuste adequado da hipótese de 15:1 para todas as seis raças (Tabela 7), sugerindo a segregação de dois genes. Tal hipótese contraria o modelo esperado (AABBccdd x aabbCCDD), cuja segregação dos quatro genes independentes acarretaria em um número muito pequeno de plantas sensíveis, aquém do limite de detecção das populações utilizadas. A presença de um ou dois genes em comum de resistência entre essas linhagens também foi descartada, uma vez que a presença desses genes implicaria na não detecção de plantas F_2 susceptíveis. Assim, pode-se sugerir que a existência de efeitos epistáticos, de complementaridade entre genes e/ou diferenças no *background* genético das linhagens tenha favorecido a expressão de apenas dois genes dominantes nas F_2 , ao contrário dos resultados esperados para cada um dos parentais em função dos cruzamentos teste (Tabela 6).

De maneira semelhante, para a maioria dos cruzamentos envolvendo linhagens com um gene dominante de resistência (ARG-1 e QL-3) com aquelas que apresentam dois genes de resistência (Tx430, BTx623 e SC414-12), a população F_2 apresentou segregação 15:1, indicando também a presença de dois genes dominantes distintos controlando a resistência ao míldio (Tabela 7). Tais resultados foram obtidos nas populações F_2 entre BTx623 x QL-3, BTx623 x ARG-1, SC414-13 x ARG-1 e Tx430 x ARG-1, apesar de ser esperada a segregação de três genes (63:1) em função do modelo AABBcc x aabbCC. Assim, as mesmas inferências sobre a possibilidade de efeitos epistáticos, complementaridade entre genes ou diferenças no *background* genético ter alterado a segregação esperada podem ser feitas.

Já, os dados obtidos na F_2 dos cruzamentos QL-3 x Tx430 e QL-3 x SC414-12 sugerem um melhor ajuste para a frequência de 63 plantas resistentes para uma susceptível, para a maioria das raças (Tabela 7). Tais

resultados estariam de acordo com a segregação esperada segundo o modelo de genótipos AABBcc x aabbCC obtido com os cruzamentos testes (Tabela 6). No entanto, é importante ressaltar a limitação estatística, não sendo possível a distinção entre as segregações de dois (15:1) ou três (63:1) genes em uma população F₂ composta de 150 indivíduos. Segundo HANSON (1959), seria necessária uma população de tamanho superior a 290 indivíduos para se obter uma probabilidade de 5% para diferenciar as duas segregações esperadas. A limitação do poder estatístico da população pode ser denotada pela grande variação nas probabilidades associadas aos valores de qui-quadrado, causada pela alteração em apenas um indivíduo susceptível, que poderia ser um escape. Assim, uma afirmação quanto à existência de dois ou três genes independentes nessas populações não deve ser realizada.

A verificação de três ou dois genes dominantes independentes condicionando resistência a algumas raças de *P. sorghi*, bem como o efeito do *background* genético corrobora com as divergências encontradas entre os autores CRAIG e SCHERTZ (1985), SIFUENTES e FREDERIKSEN (1988) e REDDY et al. (1992) quanto ao número de genes para resistência ao míldio entre as fontes SC414-12 e QL-3.

5.4. Avaliação da população de RILs

Para a população de 121 linhagens recombinantes (RILs) originada a partir do cruzamento de uma fonte de resistência (BTx623) com uma fonte susceptível (IS3620C), a presença de dois genes dominantes é testada pela hipótese de segregação 3:1 (resistente:susceptível) e a presença de um gene dominante de resistência pela segregação 1:1 (Tabela 8). O valor de qui-quadrado tabelado com nível de significância de 5% e um grau de liberdade é 3,841.

A provável presença de dois genes dominantes de resistência na linhagem BTx623 foi observada para as raças 04A, 20A, 22A e 22B pela segregação 3:1 (Tabela 8). GOWDA et al. (1995) observaram a existência de dois genes de resistência na linhagem BTx623, corroborando com parte dos resultados obtidos. Contudo quando essas RILs foram inoculadas com as raças 18A e 20A não foram verificadas as segregações 3:1 ou 1:1. Tais resultados

podem ser parcialmente explicados pelo tamanho populacional que não foi suficiente para confirmar a segregação, ou pela presença de interações epistáticas que afetam a segregação esperada.

Tabela 8: Ajuste da segregação observada para as hipóteses de segregação de um (1:1) ou dois (3:1) genes de resistência aos seis raças de *P. sorghi* na população de RILs por meio do teste qui-quadrado e suas probabilidades.

Raças	Observado		χ^2 (1:1)	χ^2 (3:1)	P (1:1)	P (3:1)
	R	S				
04A	80	33	19,56	1,06	0,00	30,21
16A	79	33	18,89	1,19	0,00	27,52
18A	70	39	8,82	6,76	0,30	0,93
20A	69	38	14,37	6,31	0,02	1,20
22A	76	32	17,93	1,23	0,00	26,65
22B	79	33	13,29	1,19	0,26	27,52

5.5. Diversidade genética para resistência ao míldio do sorgo na população BTx623 x IS3620C

Considerando que a linhagem BTx623 possui dois genes de resistência dominantes e independentes para pelo menos quatro das seis raças de *P. sorghi*, foram formuladas três hipóteses para avaliação da coincidência da reação de susceptibilidade/resistência na população. Para essa análise, todas as raças foram avaliadas em combinações de dois a dois. A primeira hipótese considera uma coincidência de 100%, ou seja, os mesmos dois genes conferem resistência às duas raças. A segunda hipótese é que haveria três genes dominantes e independentes na linhagem BTx623, sendo um gene comum controlando a resistência às duas raças simultaneamente. Nessa situação, esperar-se-ia uma coincidência em 75% dos casos. A terceira hipótese considera a existência quatro genes diferentes, dois deles conferindo resistência a uma raça e os outros dois conferindo resistência à outra raça, com isso a hipótese testada é de 62,5% de coincidência (Tabela 9).

Para verificação das hipóteses foi aplicado o teste Z, com um grau de liberdade, nível de significância de 5%, e com valor crítico tabelado em +/-1,96 (Tabela 10). Não houve verificação de coincidência de 100% para nenhuma das combinações possíveis da avaliação das RILs, indicando que não são os mesmos genes que conferem resistência às seis raças de *P. sorghi*.

Tabela 9: Resumo das hipóteses Ho e a frequência de coincidência esperada entre os escores de cada raça.

Ho	Locos para raça 1	Locos para raça 2	Cruzamento (Btx623 x IS3620C)	% Coincidência esperada entre os escores de cada par de raças
2 genes	A, B	A, B	AABB x aabb	100
3 genes	A, B	A, C	AABBCC x aabbcc	75
4 genes	A, B	C, D	AABBCCDD x aabbccdd	62,5

Tabela 10: Avaliação da coincidência das reações de susceptibilidade e resistência pelo teste Z a 5% de probabilidade. Os asteriscos indicam que a hipótese Ho não foi rejeitada a 90% de certeza.

Raças	Raças			
	FV	16A	22A	22B
04A	% coinc.	76,85	67,89	74,11
	Ho \geq 75%	0,44*	-1,71*	-0,22*
	Ho \geq 62,5%	3,17	1,27*	2,64
16A	% coinc.		63,30	67,86
	Ho \geq 75%		-2,82	-1,74*
	Ho \geq 62,5%		0,28*	1,28*
22A	% coinc.			75,76
	Ho \geq 75%			0,17*
	Ho \geq 62,5%			2,82

As raças 18A e 20A não foram avaliadas por esse teste, pois, as RILs quando inoculadas com essas raças não apresentaram segregação consistente com a presença de um ou dois genes dominantes de resistência.

Para todos os pares de combinações possíveis, com exceção do par 16A e 22A foi aceita a hipótese de 75% de coincidência, o que sugere que um dos genes de resistência na linhagem BTx623 confere resistência à ambas as raças em cada combinação testada (Tabela 10). Entre as raças 22A e 16A foi clara a inexistência de genes comuns de resistência, tendo em vista a hipótese de coincidência significativa de 62.5% (Tabela 10). Por outro lado, há ambigüidade nesse teste na avaliação dos pares 04A e 22A; 16A e 22B, não sendo possível estabelecer claramente se há ou não genes comuns conferindo resistência nessas RILs quando avaliadas para resistência a essas raças de *P. sorghi*.

5.6. Conclusão e possíveis estratégias para o melhoramento

Os resultados obtidos no presente trabalho fornecem subsídios para a utilização de várias linhagens como fontes para a introdução de genes de resistência no programa de melhoramento genético de sorgo da Embrapa. A combinação de genes de resistência horizontal e vertical deve ser enfatizada, uma vez que quando quebra a resistência vertical a cultivar ainda conteria, em partes, a infecção do patógeno utilizando os mecanismos da resistência horizontal.

Neste trabalho foram identificadas fontes de resistência vertical de amplo espectro como QL-3 ou ARG-1 que apresentam um gene de resistência para todas as raças e linhagens como BTx623 e SC414-12, que apresentaram dois genes de resistência às raças de *P. sorghi* presentes no Brasil. Contudo, alguns cuidados devem ser tomados como interações epistáticas e efeitos do *background* genético, que podem afetar a expressão da resistência nas linhagens elites a serem convertidas.

A população de RILs (BTx623 x IS3620) segregou para a resistência a seis das nove raças avaliadas, indicando que o mapeamento genético para resistência ao míldio poderá ser realizada utilizando as informação do mapa de ligação a ser disponibilizado pela Universidade do Texas A&M.

Para uma incorporação efetiva e direcionada desses genes no melhoramento será fundamental o mapeamento dos mesmos e a validação de marcadores associados a eles. Além de viabilizar o uso na seleção assistida, os marcadores moleculares fornecerão informações adicionais sobre o número de genes segregando nas populações, que até então não foram completamente esclarecidos.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADENLE, V.O.; CARDWELL, K.F. Seed transmission of maize downy mildew (*Peronosclerospora sorghi*) in Nigeria. **Plant Pathology**, v. 49, p. 628-634, 2000.
- ANAHOSUR, K.N.; PATIL, S.H. Chemical control of sorghum downy mildew in India. **Plant Disease**, v. 64, p. 1004-1006, 1980.

- BARBOSA, F.C.R. Variabilidade patogênica em *Peronosclerospora sorghi* (Weston & Uppal) C.G. Shaw, agente etiológico do míldio do sorgo, e resistência genética no hospedeiro. (Dissertação de Mestrado). Lavras. **Universidade Federal de Lavras**, 2004.
- BARBOSA, F.C.R.; PFENNING, L.H.; CASELA, C.R. *Peronosclerospora sorghi*, o agente etiológico do míldio do sorgo. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, p. 119-132, 2006.
- BEIL, G.M.; ATKINS, R.E. Estimates of general and specific combining ability in F1 hybrids for grains yield its components in grain sorghum, *Sorghum vulgare* Pers. **Crop Science**, v. 7, n. 3, p. 225-228, 1967
- BHAT, M.G. Studies on inheritance of resistance to downy mildew *Peronosclerospora sorghi* (Weston and Uppal) Shaw in sorghum. (Master Thesis). Bangalore, Índia. **University of Agricultural Science**, 1981.
- 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.
- BOCK, C.H.; JEGER, M.J. Downy mildew of sorghum. **International Sorghum and Millets Newsletters**, v. 37, p. 33-51, 1996.
- BOCK, C.H. The effect of wind on the dispersal of oospores of *Peronosclerospora sorghi* from systemically infected sorghum leaves. **Plant Pathology**, v. 46, p. 430-449, 1997.
- BRUCK, R.I.; GOODING, G.V.Jr.; MAIN, C.E. Evidence for resistance to metalaxyl in isolates of *Peronospora hyoscyami*. **Plant Disease**, v. 66, n. 1, p. 44-45, 1982.
- BUTLER, E.J. Some diseases of cereals caused by *Sclerospora graminicola*. **Memoirs of the Department of Agriculture of India Botanical Series**, v. 2, p. 1-14, 1907.
- CASELA, C.R.; PINTO, M.F.J.A.; OLIVEIRA, E.; FERREIRA, A.S. Sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench): controle de doenças. VALE, F.X.R. & ZAMBOLIM, L. (Eds.) **Controle de doenças de plantas Editora UFV**, Viçosa, p. 1025-1064, 1997.
- CASELA, C.R.; FERREIRA, A.S. **O míldio do sorgo**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2001. (Circular Técnica, 12).
- CASELA, C.R. Sorghum diseases in Brazil. In: LESLIE, J. F. (Ed.). **Sorghum and millets diseases**. Iowa State, p. 379-382, 2002.
- 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, p. 278-279, 1983.
- CRAIG, J.; SCHERTZ, K.F. Inheritance of resistance in sorghum to three pathotypes of *Peronosclerospora sorghi*. **Phytopathology**, v. 75, p. 1077-1078, 1985.
- CRAIG, J. Tiered temperature system for producing and storing conidia of *Peronosclerospora sorghi*. **Plant Disease**, v. 71, p. 356-358, 1987.
- CRAIG, J. Sorghum downy mildew loss assessment with near-isogenic sorghum populations. **Phytopathology**, v. 79, p. 448-451, 1989.
- CRAIG, J.; ODVODY, G.N. Current status of sorghum downy mildew control. In: de MILLIANO, W.A.J.; FREDERIKSEN, R.A.; BERGSTON, G.D. (Eds.) **Sorghum and millet diseases: a second world review**. Patancheru, Índia: Internacional Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, p. 213-217, 1992.
- CUI, Y.; MAGILL, J.; FREDERIKSEN, R.; MAGILL, C. Chalcone synthase and phenylalanine ammonia-lyase mRNA levels following exposure of sorghum seedlings to three fungal pathogens. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 49, p. 187-199, 1996.
- DEAHL, K.L. Testing for resistance to metalaxyl in *Phytophthora infestans* isolates from Northwestern Washington. **American Potato Journal**, v. 70, p. 779-795, 1993.
- FERNANDES, F.T. Míldio do Sorgo *Sclerospora sorghi* (kulk) Weston & Uppal no Brasil. In: **Encontro nacional de fitossanitaristas**, 1., 1980, Campinas. Anais...Campinas, CATI, 1980. 200p.
- 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.
- FERNÁNDEZ, L.D.; MECKENSTOCK, D.H. Virulencia de *Peronosclerospora sorghi* en Honduras. **CEIBA**, v. 28, p. 79-95, 1987.
- FLOR, H.H. Inheritance pathogenicity in crosses between physiologic races 22 and 24 of *Melampsora lini*. **Phytopathology**, v. 32, p. 5, 1942.
- FREDERIKSEN, R.A. 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. **Sorghum downy mildew: a disease of maize and sorghum**. Texas: Texas Agricultural Experimental Station, 1973. 32p. (Research monograph, 2).
- FREDERIKSEN, R.A. Sorghum downy mildew in the United States: Overview and outlook. **Plant Disease**, v. 64, 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.
- GEETHA, N.P.; AMRUTHESH, K.N.; SHARATHCHANDRA, A.G.; SHETY, H.S. Resistance to downy mildew in pearl millet is associated with increased phenylalanine ammonia lyase activity. **Functional Plant Biology**, v. 32, p. 267-275, 2005.
- GIMENES-FERNANDES, N.; FREDERIKSEN, R.A.; PENA, A.M. Avaliação da resistência ao míldio (*Peronosclerospora sorghi* (Weston & Uppal) C. G. Shaw através da leitura das lesões foliares locais. **Summa Phytopathologica**, v. 10, p. 189-205, 1984.
- GUIMARÃES, F.B.; CASELA, C.R.; SANTOS, F.G.; PEREIRA, J.C.R.; FERREIRA, A.S. Avaliação da resistência de genótipos de sorgo a antracnose. **Summa Phytopathologica**, v. 25, p. 308-312, 1999.
- GOWDA, P.S.B.; MAGILL, C.W.; FREDERIKSEN, R.A.; XU, G.W. DNA based markers for downy mildew. Resistance genes in sorghum. **Genome**, v. 38, p. 823-826, 1995.
- GRÜNWARD, N.J.; STURBAUM, A.K.; MONTES, G.R.; SERRANO, E.G.; LOZOYA-SALDAÑA H.; FRY, W.E. Selection for fungicide resistance within a growing season in field populations of *Phytophthora infestans* at the center of origin. **Phytopathology**, v. 96, n. 12, p. 1397-1403, 2006.
- HAWKSWORTH, D.L.; SUTTON, B.C.; AINSWORTH G.C. Commonwelath Mycological Institute. Kew, Surrey. p. 445, 1983.
- JEGER, M.J. 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. The mode of *Sclerospora sorghi* infection of sorghum bicolor leaves. **Phytopathology**, v. 61, p. 406-408, 1971.
- KAMBAL, A.E.; WEBSTER, O.J. Estimation of general and specific combining ability in grain sorghum, *Sorghum vulgare* Pers. **Crop Science**, v. 5, n. 6, p. 521-523, 1965.
- KENNETH, R.G. The downy mildews of corn and the other gramineae in Africa and Israel and the present state of knowledge and research. **Kasetsart Journal**, v. 10, p. 148-159, 1976.

- KULKARNI, G.S. Observations on the downy mildew (*Sclerospora graminicola* (Saac.) Schroet.) of bajri and jowar. **Memoirs of the Department of Agriculture of India Botanical Series**, v. 5, p. 268-273, 1913.
- McDONALD, B.A.; LINDE, C. The population genetics of plant pathogens and breeding strategies for durable resistance. **Euphytica**, v. 124, p.163-180, 2002.
- MANN, J.A.; KIMBER, C.T.; MILLER, F.R. The origin and the early cultivation of sorghums in Africa. **Bulletin No. 1454**. Texas A&M University, College Station, Texas, 1983.
- 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.
- MURTY, D.S.; TABO, R.; AJAYI, O. Sorghum hibrid seed production and management. **Andhea Proeoh**: ICRISAT, 1994. 67p. (ICRISAT, Information Bulletin, 41).
- OH, B.J.; FREDERIKSEN R.; MAGILL C. Identification of RFLP linked to a gene for downy mildew resistance (Sdm) in sorghum. **Canadian Journal of Botany**, v. 74, p. 317-317, 1996.
- PUTTARUDRAPPA, A.; KULKARNI, B.G.P.; KAJJARI, N.B.; GOUD, J.V. Inheritance of resistance to downy mildew in sorghum (*Sclerospora sorghi*). **Indian Phytopathology**, v. 25, p. 471-473, 1972.
- REDDY, B.V.S.; MUGHOGHO, L.K.; NARAYANA, Y.D.; NICODEMUS, K.D.; TENHOUSE, J.W. Inheritance pattern of downy mildew resistance in advanced generations of sorghum. **Annals of Applied Biology**, v. 121, p. 249-255, 1992.
- RHODES, M.J.C. Physiological roles for secondary metabolites in plants: some progress, many outstanding problems. **Plant Molecular Biology**, v. 13, p. 7207-7221, 1994.
- ROBINSON, R.A. Disease resistance terminology. **Review of Applied Mycology**, v. 48, n. 11/12, p. 593-606, 1969.
- SAFEEULA, K.M. Infection of maize by downy mildews. **Symposium on downy mildew of maize**. Tokio, p. 93-101, 1975.
- SAFEEULLA, K.M.; THIRUMALACHAR, M.J. Gametogenesis and oospore formation in *Sclerospora* species on *Sorghum vulgare*. **Mycologia**, v. 47, p. 177-184, 1955.

- SAFEEULLA, K.M.; SHETTY, H.S. Sorghum downy mildew in Asia: assessment of present knowledge and future research needs In: Sorghum Diseases - A World Review. **Proceedings of the International Workshop at ICRISAT**, p. 173, 1978.
- SANTOS, J.B. dos. **Melhoramento de plantas visando resistência a 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.
- SHAW, C.G. *Pronosclerospora* (Ito) Shirai and K. Hara antedates *Peronosclerospora* (Ito) C.G. Shaw. **Mycologia**, v. 72, p. 425-426, 1980.
- 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 (Plant Sciences)**, v. 90, p. 45-51, 1981.
- SIFUENTES, J.; FREDERIKSEN, R.A. Inheritance of resistance to pathotypes 1, 2, and 3 of *Peronosclerospora sorghi* in sorghum. **Plant Disease**, v. 72, p. 332-333, 1988.
- THOMPSON, J. N.; BURDON, J.J., Gene-for-gene coevolution between plants and parasites. **Nature**, v. 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.
- 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. **Cultura do sorgo**, Lavras: UFLA/FAEP, 2002. 76 p. 2002.
- WESTON, W.H.; UPPAL, B.N. The basis for *Sclerospora sorghi* as a species. **Phytopathology**, v. 22, p. 573-586, 1932.
- WIGLESWORTH, M.D.; REUVENI, M.; NESMITH, W. C.; SIEGEL, M.R.; KUC, J.; JUAREZ, J. Resistance of *Peronospora tabacina* to metalaxyl in Texas and Mexico. **Plant Disease**, v. 72, n. 11, p. 964-967, 1988
- WILLIAMS, R.J. Downy mildews of tropical cereals. In: Ingram, D.S. & Williams, P.H. (Eds.) **Advances in Plant Pathology**, v.2. London, UK. Academic Press, p.1-103, 1984.
- 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. 376, 1980.

VAN DER PLANK, J.E., Disease resistance in plants. **Academic press.**
Orlando, 1968.

WILLIAMS, R.J. Downy mildews of tropical cereals. In: Ingram, D.S. & Williams,
P.H. (Eds.) **Advances in Plant Pathology**, v. 2. p. 1-103, 1984.