

**THALLITA SANTOS GUIMARÃES**

**Variabilidade genética de *Colletotrichum sublineolum* e resistência  
de genótipos de sorgo biomassa e sacarino à antracnose**

CÁCERES  
MATO GROSSO - BRASIL  
Janeiro - 2018

**THALLITA SANTOS GUIMARÃES**

**Variabilidade genética de *Colletotrichum sublineolum* e resistência  
de genótipos de sorgo biomassa e sacarino à antracnose**

Dissertação apresentada à UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Marco Antonio Aparecido Barelli

Co-orientadora: Profa. Dra. Carla Lima Corrêa

CÁCERES  
MATO GROSSO - BRASIL  
Janeiro - 2018

G963v GUIMARÃES, Thallita Santos.  
Variabilidade Genética de Colletotrichum Sublineolum e Resistência de Genótipos de Sorgo Biomassa e Sacarino À Antracnose / Thallita Santos Guimarães - Alta Floresta/ Cáceres/ Tangará da Serra, 2018.  
69 f.; 30 cm.(ilustrações) Il. color. (sim)

Artigo Científico - Curso de Pós-graduação Stricto Sensu (Mestrado Acadêmico) Genética e Melhoramento de Plantas, Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias, Multicampi, Universidade do Estado de Mato Grosso, 2018.  
Orientador: Marco Antonio Aparecido Barelli  
Coorientador: Carla Lima Corrêa

1. Sorghum Bicolor (L.) Moench. 2. Marcadores Moleculares. 3. Issr. 4. Severidade da Doença. 5. Componentes Epidemiológicos. I. Thallita Santos Guimarães. II. Variabilidade Genética de Colletotrichum Sublineolum e Resistência de Genótipos de Sorgo Biomassa e Sacarino À Antracnose: .  
CDU 633.174

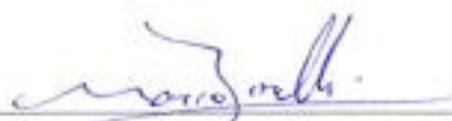
**Variabilidade genética de *Colletotrichum sublineolum* e resistência de genótipos de sorgo biomassa e sacarino à antracnose**

**THALLITA SANTOS GUIMARÃES**

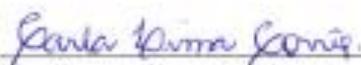
Dissertação apresentada à UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, para obtenção do título de Mestre.

Aprovada em 19 de janeiro de 2018.

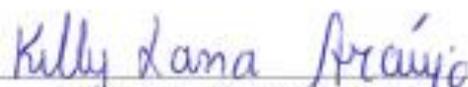
Comissão Examinadora:



**Prof. Dr. Marco Antonio Aparecido Barelli**



**Profa. Dra. Carla Lima Corrêa**



**Profa. Dra. Kelly Lana Araújo**

“Entrega o teu caminho ao Senhor; confia Nele, e Ele tudo fará.”

(Salmos 37:5)

Aos meus pais Adigenir Porcena Guimarães e Marislei Pereira dos Santos  
Guimarães por todo amor dedicado a mim e incentivo;  
Ao meu irmão Marcos Vinícius Santos Guimarães, por sempre acreditar na minha  
capacidade;  
Ao meu sobrinho Bernardo Teodoro Guimarães, por encher minha vida de luz com  
sua presença;  
Ao meu namorado Alex Jr. Sandol Floriano pelo amor, compreensão e  
cumplicidade.  
Ao meu avô Eduardo Lino dos Santos, (*in memoriam*) que sempre estará em meu  
coração.

DEDICO

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por ser minha fortaleza e meu refúgio. Obrigada por ter atendido meus pedidos, me dar sabedoria, saúde, inteligência, paciência e coragem de viver sem medo de enfrentar os desafios da vida. E a Nossa Senhora Aparecida pela presença em minha vida, pela intercessão junto a Deus e bênçãos a mim concedidas.

A Universidade do Estado de Mato Grosso e ao Programa de Pós Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, pela oportunidade e crescimento profissional e pessoal.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoas de Nível Superior – Capes, pela concessão da bolsa de estudos.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, pelo apoio técnico.

A meu orientador Dr. Marco Antonio Aparecido Barelli pela confiança depositada em mim, pela paciência e ajuda na condução do trabalho.

A minha co-orientadora Dra. Carla Lima Corrêa, pelo carinho, por todo auxílio em todas etapas do trabalho, pela paciência em transmitir seus conhecimentos, pela amizade, pelos conselhos e parceria.

Aos professores do Programa de Pós Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas pelos ensinamentos, em especial aos professores Drs. Flávio Dessaune Tardin, Petterson Baptista da Luz, Leonarda Grillo Neves pelo auxílio e disponibilidade em ajudar quando precisei.

A professora Dra. Kelly Lana Araújo, pesquisadora Dra. Dagma Dionisia da Silva e ao Dr. Nilo Leal Sander, pela valiosa contribuição na condução do trabalho.

Aos meus amados pais Adigenir P. Guimarães e Marislei P. S. Guimarães e ao meu irmão Marcos Vinicius S. Guimarães, que foram mais do que suporte, foram meu porto seguro, minha fortaleza e os merecedores dessa vitória, pois sempre estiveram do meu lado, acreditaram no meu potencial e me impulsionaram a continuar e nunca desistir. Obrigado Família!

A meu grande amigo e namorado Alex Jr. S. Floriano, pelo companheirismo, por compartilharmos os mesmos sonhos, pela colaboração imprescindível, pela paciência, por toda a calma que sempre me transmite, pela confiança depositada

mim e cada lágrima que me ajudou a enxugar nesse período, principalmente nas horas mais difíceis. Meu amor, você fez toda a diferença em meus dias.

A todos os colegas do Laboratório de Recursos Genéticos e Biotecnologia (pós-graduação, bolsistas e voluntários) que direta ou indiretamente, me auxiliaram na realização desse trabalho.

Aos meus familiares e amigos, por estarem sempre presentes na minha vida e sempre compreenderem minhas ausências.

Aos meus queridos amigos Valdete C. Ambrozio e Alessandro A. B. Santos, obrigado pelo carinho, pelas palavras sinceras e conselhos. Obrigado de coração!

As amigas e parceiras de sempre Nandara Maciel e Mirtes Aquino (S.G.P.), pelo carinho, conselhos e pelas palavras de entusiasmo, não poderia deixar de agradecê-las.

A todos os colegas do Programa de Pós Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas da turma 2016/1, em especial Carolina Barros, Marco Antonio, Lidiane Miranda, Michele de Moraes e Isabela dos Anjos pelos bons momentos compartilhados.

Aos amigos Francisco Mazuy, Josiane Albino, Carla Figueiredo, Dalila Soares e Maria Rosalina pela amizade.

A todos que contribuíram de alguma maneira para conclusão deste trabalho.  
Meu muito obrigado!

## BIOGRAFIA

THALLITA SANTOS GUIMARÃES, filha de Adigenir Porcena Guimarães e Marislei Pereira dos Santos Guimarães, nasceu no Município de Pontes e Lacerda - MT, no dia 06 de Agosto de 1993.

Concluiu Ensino Médio na escola Estadual 14 de Fevereiro no município de Pontes e Lacerda/MT no ano de 2010.

Diplomou Engenheira Agrônoma pela Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT), *Campus* de Cáceres-MT em agosto de 2015.

Em fevereiro de 2016 ingressou no Programa de Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas da Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT), na linha de pesquisa em Melhoramento Genético Vegetal, em Cáceres-MT.

## SUMÁRIO

|  |    |
|--|----|
| <b>1. INTRODUÇÃO</b> .....   | 1  |
| <b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....  | 3  |
| 2.1 A cultura do Sorgo .....   | 3  |
| 2.2 Antracnose no Sorgo .....  | 5  |
| 2.3 Variabilidade genética de <i>Colletotrichum sublineolum</i> .....                          | 8  |
| 2.4 Resistência de plantas x variabilidade genética .....                                      | 10 |
| <b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....   | 12 |
| 3.1 Caracterização da área de estudo .....   | 12 |
| 3.2 Isolados de <i>Colletotrichum sublineolum</i> .....  | 12 |
| 3.3 Extração e amplificação de DNA genômico de <i>Colletotrichum sublineolum</i> ....          | 13 |
| 3.3.1 Análise estatística .....  | 16 |
| 3.3.1.1 Conteúdo de informação de polimorfismo (PIC) e Frequência Alélica....                  | 16 |
| 3.3.1.2 Estrutura genética da população de isolados de <i>Colletotrichum sublineolum</i> ..... | 16 |
| 3.3.1.3 Variabilidade genética via marcadores dominantes (ISSR).....                           | 16 |
| 3.3.1.4 Métodos de Agrupamento Hierárquico de UPGMA e de Otimização Tocher .....               | 17 |
| 3.4 Reação de sorgo sacarino e biomassa à <i>Colletotrichum sublineolum</i> .....              | 18 |
| 3.4.1 Produção e preparo do inóculo de <i>Colletotrichum sublineolum</i> .....                 | 19 |
| 3.4.2 Características avaliadas .....  | 21 |
| a) Período de incubação médio .....  | 21 |
| b) Severidade da doença e comprimento e largura da lesão .....                                 | 21 |
| c) Porcentagem da área foliar doente (%AFD) .....  | 22 |
| 3.4.3 Análises Estatísticas .....  | 22 |
| 3.4.3.1 Análise de variância .....   | 22 |

|  |           |
|--|-----------|
| 3.4.3.2 Estimadores de correlação simples .....  | 24        |
| <b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>   | <b>25</b> |
| 4.1 Análise descritiva da variabilidade dos isolados de <i>Colletotrichum sublineolum</i><br>..... | 25        |
| 4.2 Estrutura genética da população de isolados de <i>Colletotrichum sublineolum</i> ..            | 27        |
| 4.3 Agrupamento Pelo Método de UPGMA.....  | 29        |
| 4.4 Agrupamento de Tocher .....  | 32        |
| 4.5 Análise de Variância .....   | 34        |
| 4.5.1 Agrupamento de médias pelo método de Scott-Knott .....                                       | 35        |
| 4.6 Correlação Simples.....  | 41        |
| <b>5. CONCLUSÕES .....</b>   | <b>43</b> |
| <b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>   | <b>44</b> |

## RESUMO

GUIMARÃES, Thallita Santos, M.Sc., UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO, Janeiro de 2018. **Variabilidade genética de *Colletotrichum sublineolum* e resistência de genótipos de sorgo biomassa e sacarino à antracnose.** Professor Orientador: Marco Antonio Aparecido Barelli. Professoras Conselheiras: Carla Lima Corrêa e Kelly Lana Araújo.

A ocorrência de doenças é um dos fatores limitantes no desenvolvimento de qualquer cultura e dentre elas, a antracnose é uma das mais importantes e severas na cultura do sorgo, principalmente, pela variabilidade apresentada pelo patógeno que dificulta a realização do controle da doença. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a variabilidade genética de isolados de *Colletotrichum sublineolum* e analisar a reação de genótipos de sorgo biomassa e sacarino a isolados do patógeno. A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Recursos Genéticos & Biotecnologia e em casa de vegetação. Foram utilizados 56 isolados monospóricos de *C. sublineolum*. Após a extração de DNA foi realizada a amplificação utilizando-se onze *primers* ISSR. Posteriormente, foram realizadas as análises moleculares, determinando o conteúdo de informação de polimórfica, frequência alélica, também foram realizadas análises de agrupamentos de UPGMA, Tocher e o Structure. Com base no resultado da variabilidade genética, foram selecionados 10 isolados para avaliar a reação de genótipos de sorgo aos diferentes isolados. O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial simples (4x10) com quatro genótipos de sorgo e dez isolados de *C. sublineolum*. Após a inoculação as folhas inoculadas foram observadas diariamente para determinar o período de incubação (PI), também foram realizadas avaliações da severidade da doença e comprimento e largura da lesão. No final do experimento foi quantificada a porcentagem de área foliar doente. Os dados foram submetidos à análise de variância e agrupamento de médias segundo Scott & Knott. Também foi realizada análise de correlação entre as variáveis. De acordo com a análise descritiva da variabilidade genética dos isolados de *C. sublineolum* o *primer* AP1 foi o mais informativo apresentando maior conteúdo de informação polimórfica (PIC). A maior frequência alélica foi observada nos locos 06, 09, 10 e 24 e a menor frequência alélica foi observada no loco 02. Quanto aos métodos de agrupamentos, observou-se que os isolados de *C. sublineolum* tendem a se organizar de acordo

com sua procedência, além disso, essas análises evidenciaram a presença de variabilidade genética entre os isolados de *C. sublineolum*. De acordo com a análise de variância, houve diferenças significativas para as características avaliadas. Pelo teste de Scott-Knnot verificou-se diferenças na agressividade dos isolados de *C. sublineolum* obtidos dos diferentes genótipos de sorgo, sendo os provenientes de Cáceres/MT mais agressivos. Dentre os genótipos avaliados, o genótipo de sorgo biomassa Agri 002-E apresentou maior suscetibilidade em relação aos isolados de *C.sublineolum*.

**Palavras-chave:** *Sorghum bicolor* (L.) Moench; marcadores moleculares; componentes epidemiológicos.

## ABSTRACT

GUIMARÃES, Thallita Santos, M.Sc., UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO, January, 2018. **Genetic variability of *Colletotrichum sublineolum* and resistance of sorghum genotypes**. Adviser: Marco Antonio Aparecido Barelli. Counselors: Carla Lima Corrêa and Kelly Lana Araújo.

The occurrence of diseases is one of the limiting factors in the development of any crop and among them, anthracnose is one of the most important and severe in the sorghum crop, mainly due to the variability presented by the pathogen that makes it difficult to control the disease. In this context, the objective of this work was to evaluate the genetic variability of *Colletotrichum sublineolum* isolates and to analyze the reaction of genotypes of sorghum biomass and saccharin to isolates of the pathogen. The research was conducted in the Laboratory of Genetic Resources & Biotechnology and in a greenhouse. Fifty-six monosporic isolates of *C. sublineolum* were used. After DNA extraction, amplification was performed using eleven ISSR primers. Subsequently, the molecular analyzes were carried out, determining the content of polymorphic information, allelic frequency, and analyzes of groupings of UPGMA, Tocher and Structure. Based on the result of the genetic variability, 10 isolates were selected to evaluate the reaction of sorghum genotypes to the different isolates. The experiment was conducted in a completely randomized design in a simple factorial scheme (4x10) with four genotypes of sorghum and ten isolates of *C. sublineolum*. After inoculation, the inoculated leaves were observed daily to determine the incubation period (IP). Evaluations of disease severity and lesion length and width were also performed. At the end of the experiment the percentage of diseased leaf area was quantified. Data were submitted to analysis of variance and grouping of means according to Scott & Knott. A correlation analysis was also performed between the variables. According to the descriptive analysis of the genetic variability of the isolates of *C. sublineolum*, the AP1 primer was the most informative presenting higher polymorphic information content (PIC). The highest allele frequency was observed at loci 06, 09, 10 and 24 and the lowest allele frequency was observed at locus 02. As for clustering methods, it was observed that *C. sublineolum* isolates tend to be organized according to their In addition, these analyzes evidenced the presence of genetic variability among *C.*

*sublineolum* isolates. According to the analysis of variance, there were significant differences for the evaluated characteristics. The Scott-Knnot test showed differences in the aggressiveness of the *C. sublineolum* isolates obtained from the different genotypes of sorghum, being those from Cáceres/MT more aggressive. Among the evaluated genotypes, the Agri 002-E biomass sorghum genotype presented greater susceptibility in relation to *C.sublineolum* isolates.

**Keywords:** *Sorghum bicolor* (L.) Moench; molecular markers; epidemiological componentes.

## 1. INTRODUÇÃO

O *Sorghum bicolor* (L.) Moench é o quinto cereal mais importante em todo o mundo no que se refere ao potencial produtivo e área plantada (Conab, 2016), sendo utilizado, principalmente, na alimentação animal, nutrição e biocombustível em diversos locais (Durães, 2011). A cultura tem apresentado uma expansão no Brasil, colocando o país entre os dez maiores produtores deste cereal no mundo (Rodrigues, 2015; Conab, 2016).

O sorgo é uma planta C4, que apresenta capacidade de produção de biomassa e se destaca quanto ao seu potencial energético quando comparado com outras culturas, principalmente, por possuir características atrativas ao mercado, como: baixo custo de produção e implantação, ciclo curto, totalmente mecanizável, alto poder calorífico em caldeiras e grande tolerância à seca, podendo ser cultivados em diferentes condições edafoclimáticas (Castro, 2014).

Dentre diferentes tipos de sorgo, o biomassa e sacarino possuem um processo fotossintético muito eficaz, semelhante ao capim-elefante e cana-de-açúcar, além da tolerância à estiagem e sua capacidade potencial de produzir grandes quantidades de biomassa e caldos fermentáveis sendo, assim, uma alternativa no setor de produção de energia e sucroalcooleiro, ofertando matéria prima de qualidade, além de possibilitar a redução de custos de produção e maior geração de emprego (Teixeira et al, 1999; Parrella et al., 2011; Pereira et al., 2012; Durães et al., 2012; Castro, 2014; Batista, 2016).

Os Estados Unidos detém a maior produção mundial de sorgo, seguido por Nigéria, Sudão, México, Índia, Etiópia, China, Argentina, Austrália e Brasil (FAO, 2016). No Brasil, a maior produção de sorgo se encontra nos estados de Goiás, Minas Gerais e Mato Grosso (Conab, 2015).

Existem vários problemas fitossanitários que afetam a cultura do sorgo. Dentre eles estão às doenças, nas quais podem causar danos significativas dependendo da susceptibilidade do cultivar e das condições ambientais favoráveis à sua disseminação e ocorrência (Guedes et al., 2013). Dentre as doenças, a antracnose é uma das principais e mais devastadora, podendo afetar toda aérea da planta, causando perdas significativas no sorgo cultivado para silagem e pastejo,

além das perdas superiores a 80% na produção de grãos e mais de 50% nas forragens (Casela e Ferreira, 1998; Costa, et al., 2013).

O *Colletotrichum sublineolum* (P. Henn., Kabat e Bulbak), é o agente causal da antracnose, o qual pertence à ordem *Melanconiales*, que inclui fungos assexuados que produzem os esporos (conídios) em estruturas reprodutivas denominadas acérvulos (Costa, et al., 2003). A variabilidade existente do patógeno em condições brasileiras é um dos fatores limitantes ao desenvolvimento de cultivares resistente (Casela e Frederiksen, 1994; Panizzi e Fernandes, 1997).

Estudos sobre a variabilidade genética do agente etiológico da antracnose e a reação provocada por este em genótipos de sorgo biomassa e sacarino produzem informações que fornecem subsídios para programas de melhoramento da cultura. Neste sentido, este trabalho teve como objetivo avaliar a variabilidade genética de isolados de *Colletotrichum sublineolum* e analisar a reação de genótipos de sorgo biomassa e sacarino a isolados do patógeno.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 A cultura do Sorgo

A cultura do sorgo possui origem na África, embora alguns estudos indiquem que possam ter ocorrido em duas regiões de dispersão independentes: África e Índia (Bennett et al., 1990). A domesticação da cultura ocorreu possivelmente na Etiópia (Santos et al., 2005) e foi introduzida no Brasil, no século XX na região nordeste, passando a ser cultivada em todo o mundo, especialmente, nas zonas áridas e semiáridas (Ribas, 2003).

É uma planta anual, com temperatura ótima para seu desenvolvimento entre 16 e 38°C (Ribas, 2009), pertencente ao Reino *Plantae*, divisão *Magnoliophyta* (Angiospermas), faz parte da classe das *Liliopsida* (Monocotiledonea), ordem *Poales*, família *Poaceae*, gênero *Sorghum* e espécie *Sorghum bicolor* (Santos, 2005). Basicamente é uma planta autógama, com taxa de polinização cruzada em torno de 5% que ocorre, principalmente, pelo vento (Silva, 2009).

Tem como importante característica sua adaptação em diferentes condições edafoclimáticas, sobretudo em condições de deficiência hídrica, que é prejudicial à maior parte dos outros cereais. Sua tolerância ao déficit hídrico está associada a alta eficiência na obtenção de água por meio do seu sistema radicular profundo e com ramificações que facilitam a absorção de água do solo (Magalhães et al., 2000).

Quando comparado ao milho, o sorgo demanda 30-50% menos água para o seu desenvolvimento, consumindo cerca de 300L/kg de matéria seca produzida, enquanto o milho requer 400L/kg de matéria seca produzida, além disso, a cultura demanda significativamente menos inseticida e outros insumos químicos que outros cereais. Ainda otimiza o uso do solo possibilitando sua implantação em solos com baixa produtividade (Carrillo et al., 2014; Batista, 2016).

Os Estados Unidos detêm a maior produção mundial de sorgo (12.2 mil. ton), seguido por Nigéria (6.9 mil. ton), Sudão (5.9 mil. ton), México (5.0 mil. ton), o Brasil ocupa a décima colocação produzindo 1.2 mil. Ton (FAO, 2016). No Brasil, o sorgo é cultivado em todas as regiões do país. A região Centro-Oeste detém a maior área plantada (262,8 mil hectares) e produção nacional (482,6 mil toneladas) (Conab, 2016). Essa produtividade ocorre devido à cultura ser uma importante opção

como segunda safra, principalmente, nas regiões Sudeste e Centro-Oeste (Silva, 2006).

O sorgo produz grandes benefícios para o setor agrícola, podendo ser utilizado como alimento humano em diversos países como na África, Sul da Ásia e América Central e parte da alimentação animal nos Estados Unidos, Austrália e América do Sul. Também é utilizado na produção de forragem ou cobertura de solo (Rodrigues e Santos, 2011). No Brasil, a cultura vem sendo plantada principalmente no período de safrinha, em sucessão à soja e ao milho, com emprego também na produção de biocombustíveis e cogeração de energia (Damasceno et al., 2010; Pereira, 2009).

Existem cinco tipos de sorgo cultivados classificados, como: granífero, forrageiro, sacarino, biomassa e vassoura. As cultivares de sorgo granífero apresenta porte baixo, a altura da planta pode chegar até 170 cm, sendo os grãos, o principal produto deste tipo de sorgo (Tabosa et al., 2008); o sorgo forrageiro possui porte alto, entre dois e três metros, utilizado principalmente como silagem na alimentação de bovinos (Castro, 2014); o sorgo sacarino apresenta porte alto (maior que 3m), possui como principal característica os colmos suculentos, que são compostos de sacarose, glicose e frutose podendo, desta forma, ser prontamente fermentados em álcool (Saidur et al., 2011); o sorgo biomassa apresenta porte muito alto, podendo atingir mais de cinco metros de altura, possui como principal característica a produção de biomassa que é utilizada como fonte renovável de energia (May et al., 2013); e o sorgo vassoura que apresenta porte alto com colmos geralmente finos e grãos pequenos sendo de suas panículas confeccionadas vassouras (Ribas, 2000; Von Pinho e Vasconcelos, 2002).

O sorgo biomassa e sacarino apresentam-se como importante fonte de matéria-prima para produção de bioenergia, por sua versatilidade, por ser renovável e apresentar baixo custo de produção, além disso, devido a sua sensibilidade ao fotoperíodo tem um maior período vegetativo e, conseqüentemente, maior produção de massa verde e massa seca em relação aos outros tipos de sorgo (Parrella, 2011; Castro, 2014; Batista, 2016).

Os sorgos sacarino e biomassa também vêm sendo utilizados para o cultivo nas áreas de renovação de canavial, no qual, o solo cultivado com cana-de-açúcar permanece ao menos quatro meses em pousio, no período de entressafra nas

destilarias, que compreende os meses de dezembro a abril, período em que os colmos de cana-de-açúcar estão em estágio imaturos com baixos teores de açúcares fermentáveis (Teixeira et al., 1997; Parrella et al., 2011; Silva et al., 2014). Nesta fase, a realização do corte da cana-de-açúcar ocasionaria redução da produtividade industrial provocando ociosidade das indústrias. Neste sentido, o sorgo biomassa e sacarino reforça a produção nacional de etanol e reduz o período de ociosidade das destilarias (Batista, 2016).

## **2.2 Antracnose no sorgo**

A antracnose do sorgo foi descrita pela primeira vez em Togo, Oeste da África, em 1902. Em 1912, foi detectada no Texas, Estados Unidos da América (EUA). No Brasil, foi relatada pela primeira vez no Estado de São Paulo, em 1934 e, atualmente, está presente em todas as áreas produtoras de sorgo no mundo causando prejuízos superiores a 80% na produção e qualidade de grãos e 50% na produção de forragem em cultivares suscetíveis, além de, ocasionar esterilidade parcial de panículas e danificar drasticamente a qualidade da semente e de forragem produzida (Ferreira et al., 1999; Casela e Ferreira, 1998; Silva et al., 2012; Costa, et al., 2013).

A doença é manifestada em três fases: antracnose foliar, podridão do colmo e a antracnose da panícula e dos grãos (Thakur e Mathur, 2000). A fase da antracnose foliar é a mais comum ocorrendo em qualquer um dos estádios de desenvolvimento da planta. Os sintomas iniciais são caracterizados por lesões pequenas, elípticas a circulares, com diâmetro em torno de 5 mm e com o desenvolvimento da lesão apresentando centros necróticos de coloração palha, com margens avermelhadas, alaranjadas ou castanhas, variando em função da pigmentação da cultivar. No centro das lesões ocorre a formação dos acérvulos, que é a frutificação assexual característica do patógeno e constitui a principal forma de identificação da doença em condições de campo (Casela e Ferreira, 1998).

No colmo, os sintomas característicos são formação de cancrios, as lesões são elípticas a alongadas, de coloração avermelhada, púrpura ou escura, nas quais podem ser observados os acérvulos (esporos) do patógeno. A esporulação ocorre

na nervura central, estendendo-se para as demais ramificações, glumas e sementes. As lesões ocorrem no tecido internodal do colmo, principalmente, no pedúnculo e podem apresentar-se de forma contínua ou na forma de manchas isoladas. Quando o colmo é seccionado longitudinalmente, observa-se coloração avermelhada a escura, equivalente à necrose do tecido vascular (Casela e Ferreira, 1998; Frederiksen, 2000). Quando os aparecimentos de sintomas são em folhas juntamente com os sintomas nas nervuras, os danos acarretados pela doença podem ser significativamente maiores em relação aos sintomas isolados (Casela e Ferreira, 1998; Thakur e Mathur, 2000).

Na panícula, os sintomas são caracterizados pela presença de lesões que têm, inicialmente, um aspecto encharcado, adquirindo, posteriormente, uma coloração cinza a púrpura avermelhada. Quando as panículas das plantas são infectadas, normalmente, as plantas ficam menores e amadurecem mais cedo (Warren, 1986). Nos grãos as perdas indiretas causadas pela doença são resultado da redução da germinação das sementes e transmissão da doença para novas regiões geográficas (Casela et al., 1997).

O agente causal de antracnose no sorgo é o *Colletotrichum sublineolum* Henn. No início a espécie era considerada uma forma diferente de *Colletotrichum graminicola* que incluía a maioria dos tipos de patógenos com esporos falcados causadores de antracnose em gramíneas. No entanto, em 1968, Sutton, baseando-se em diferenças na morfologia do apressório de isolados de milho e sorgo, indicou a existência de duas espécies diferentes, onde a espécie de milho passou a ser considerada como *C. graminicola* e a espécie de sorgo como *C. sublineolum* (Silva, 2009).

Esta diferença também foi evidenciada especialmente com a aplicação de técnicas moleculares, onde vários estudos realizados com filogenética molecular provaram bases para a separação de *C. graminicola* e *C. sublineolum* (Sherriff et al., 1995; Crouch et al., 2006). Dentre todos os membros do complexo *C. graminicola*, a diferenciação entre *C. graminicola* e *C. sublineolum* tem uma maior documentação na literatura por serem as duas espécies mais importantes do conjunto (Buiate, 2009).

O *C. sublineolum* em sua fase assexuada produz frutificações denominadas acérvulos de coloração escura com formato oval a cilíndrico. Com setas também de

coloração escura que podem ser observadas no centro das lesões. Nos acérvulos são produzidos os esporos que são envolvidos por uma massa mucilaginosa que protege os esporos da dessecação, aumentando a eficiência de germinação e penetração no tecido hospedeiro. (Nicholson, 1992; Bergstrom e Nicholson, 1999; Meneses, 2006; Chaky et al., 2001).

Os conidióforos são produzidos em grandes quantidades no interior dos acérvulos, são eretos, hialinos e não septados. Segundo Casela e Ferreira (1998), em meio de cultura de farinha de aveia (FAA) e luz contínua com temperatura em torno de 25°C, por 7/8 dias o patógeno apresenta boa esporulação.

O fungo sobrevive em restos culturais na superfície do solo por longo período, em espécies selvagens de sorgo e em outras espécies hospedeiras como *Sorghum halepense* e *Echinochloa colonum* (Panizzi e Fernandes, 1997), e também em sementes infectadas (Thakur e Mathur, 2000). A disseminação ocorre, principalmente, por respingos de chuva e sementes infectadas (Casela e Frederiksen, 1993).

A principal medida de controle da antracnose em sorgo é o uso de cultivares resistente, pois, além de diminuir a incidência de doenças, apresenta vantagem como o menor uso de defensivos agrícolas, evitando a poluição do ambiente, além de ser uma tecnologia que não aumenta os custos de produção, pois, as sementes de um híbrido resistente possuem o mesmo valor comercial de uma variedade suscetível (Silva, 2006).

Devido a variabilidade apresentada pelo patógeno, nem sempre a resistência genética dos genótipos é durável dificultando, assim, o controle da doença (Casela et al., 2000; Parreira et al., 2016). A resistência genética é considerada durável quando um genótipo plantado em local favorável ao seu desenvolvimento se mantém resistente a um determinado patógeno por um longo período de tempo (Crute e Pink, 1996; Adugna, 2004).

Nos últimos anos, tem-se dado grande ênfase na busca de alternativas que permitam ampliar a durabilidade da resistência à antracnose (Casela e Frederiksen, 1993; Nguyen et al., 2010; Phoulivong et al., 2010; Parreira et al., 2016). A identificação de variabilidade patogênica do agente etiológico da doença fornece subsídios para os programas de melhoramento genético que visam a obtenção de genótipos, resistentes à doença.

### 2.3 Variabilidade genética de *Colletotrichum sublineolum*

O gênero *Colletotrichum* apresenta ampla variação morfológica, o que corresponde à variabilidade genética que ocorre entre e dentro das espécies deste gênero (Sutton, 1992). Segundo Pereira (2009), a distribuição geográfica das espécies é muito vasta, principalmente, em ambientes quentes e úmidos dos trópicos.

No gênero *Colletotrichum* há um grande número de espécies. A primeira classificação foi realizada por Arx (1957), identificando 11 espécies e, ao longo dos anos o gênero foi reclassificado. Em revisão do gênero *Colletotrichum* realizada por Sutton (1980) 22 espécies foram propostas, passando para cerca de 40 espécies na atualização realizada pelo mesmo autor com trabalhos mais detalhados sobre a morfologia, caracteres culturais e capacidade patogênica em 1992. De acordo com Hyde et al., (2009), existem 66 espécies do gênero *Colletotrichum*.

A espécie *C. sublineolum* apresenta variabilidade genética, sendo que a primeira evidência desta foi constatada por Harris e Johnson, em 1967, nos Estados Unidos. Após o trabalho de Harris, vários trabalhos foram realizados utilizando marcadores moleculares comprovando a variabilidade desse patógeno (Harris e Sowel, 1970; Frederiksen e Rosenow, 1971; Casela et al., 2004; Valério et al., 2005; Silva, 2009).

No Brasil, a existência de raças fisiológicas de *C. sublineolum* foi comprovada pela primeira vez por Nakamura em 1982, onde foi verificada a existência de cinco raças do patógeno provenientes de isolados de vários locais do País (Casela e Frederiksen, 1994). Posteriormente, Ferreira e Casela (1986), identificaram a existência de sete raças de *C. sublineolum* analisando doze cultivares de sorgo. Em 1987, Casela e Ferreira indicaram um sistema para a classificação de raças de *C. sublineolum* e, com base nesse sistema, 13 raças foram identificadas entre 210 isolados provenientes de diferentes regiões do país, entre 1985 e 1987. No trabalho desenvolvido por Silva et al., (2008), foram encontradas 70 raças de *C. sublineolum* a partir de uma amostra de 289 isolados obtidos de seis regiões produtoras de sorgo do país, ocorrendo a presença de raças complexas em alta frequência para algumas localidades.

As espécies de *Colletotrichum* podem ser diferenciadas por meio de métodos tradicionais, como: forma e dimensão de conídios, coloração de colônia e taxa de crescimento micelial, entre outras características morfológicas e culturais (Freeman et al., 1998). Porém, essa caracterização não tem sido suficiente em função da grande diversidade fenotípica e instabilidade destes caracteres, decorrentes ao ambiente (Andrade et al., 2007). Pelo fato de tais características serem consideravelmente importantes na caracterização das espécies, estas necessitam ser complementadas com técnicas que aumentem a oportunidade de aprimoramento e segurança na classificação dos mesmos (Pimenta, 2009).

As técnicas moleculares são uma ferramenta complementar para o estudo populacional de *C. sublineolum*, pois, permitem uma análise precisa da variabilidade genética do patógeno, sendo capaz de detectar alterações mutacionais em regiões codificadoras de um número limitado de genes que se expressam em enzimas, tornando mais fácil e rápida a identificação de espécies e isolados de fungos patogênicos (Freeman et al., 1998).

Um dos marcadores baseado nas repetições microssatélites muito utilizados para estudo de variabilidade em *C. sublineolum* é o ISSR (*Inter-Simple Sequence Repeat*), marcador dominante que amplifica entre sequências microssatélites utilizando um único primer, composto por uma sequência repetida e ancorada com dois a quatro nucleotídeos em uma das extremidades (Zietkiewicz et al., 1994; Caixeta et al., 2009). De acordo com Perumal et al., (2008) essa técnica pode ser usada para elaborar estratégias de melhoramento tendo em vista a resistência à populações locais do patógeno e para verificar a incidência de novas raças virulentas.

O estudo da variabilidade genética de isolados de *Colletotrichum* utilizando marcadores moleculares ISSR vem sendo avaliados para diversas espécies, como, por trabalho realizado por Parreira et al., (2016) avaliando variabilidade de isolados de *C. graminicola* por meio de marcadores ISSR, onde obteve resultados eficientes na determinação da variabilidade de isolados de *Colletotrichum*. Silva (2009), avaliando a diversidade genética em *Colletotrichum sublineolum* de diferentes origens geográficas no Brasil com a utilização de primers ISSR, observou uma tendência de agrupamento em função da região geográfica em todos os locais. Em estudo realizado por Silveira (2015), avaliando variabilidade de *C. gloeosporioides* e

*C. acutatum* também obteve resultados eficientes com o uso de marcadores ISSR na variabilidade genética entre os isolados, confirmando assim o bom desempenho desse marcador para a detecção da variabilidade genética de *Colletotrichum*.

#### **2.4 Resistência de plantas x variabilidade genética**

A estratégia mais eficiente no manejo da antracnose é a utilização de cultivares geneticamente resistentes que pode ser utilizada em conjunto com alternativas complementares no controle desta doença (Casela e Ferreira, 1998; Costa et al., 2013). Existem algumas vantagens na utilização de cultivares resistentes, dentre elas a que diminui o uso de defensivos (Silva, 2009), entretanto, o uso da resistência genética nem sempre é durável devido, principalmente, a variabilidade apresentada pelo patógeno e sua rápida adaptação aos cultivares comercial (Casela e Frederiksen, 1993).

A manutenção da durabilidade da resistência genética nas doenças é um dos principais problemas enfrentados por melhoristas e fitopatologistas, uma vez que, constantemente a resistência é “quebrada” ou reduzida com o surgimento de novas raças na população de patógenos, que se adaptam à resistência existente nas cultivares comercial (Casela, 2005), em função da pressão de seleção.

De acordo com Crute e Pink (1996) e Adugna (2004), a resistência é considerada como durável quando uma cultivar amplamente plantada em ambiente favorável permanece resistente a algum patógeno por um longo período de tempo. Deste modo, a resistência genética está diretamente ligada com a forma de manejo e com a variabilidade apresentada pelo patógeno (Silva et al., 2010).

Diversos fatores contribuem para que a resistência a patógenos seja durável, dentre eles: a forma de cultivo empregado, a herança da resistência, a variabilidade presente na população do patógeno, a dimensão da população do patógeno, o ciclo de vida do hospedeiro e do patógeno, fatores epidemiológicos e a forma de utilização de alelos de resistência (Adugna, 2004; Buiate, 2010).

Outras formas de utilização da resistência genética têm sido estudadas para obtenção de resistência mais durável ao patógeno, tendo como exemplo, a seleção de genótipos que apresentem resistência dilatária (Guimarães et al., 1998; Casela et al., 2000; Buiate, et al., 2010), nesse tipo de resistência a ocorrência de infecção e severidade da doença acontece de forma reduzida, havendo baixas taxas de

desenvolvimento do patógeno, produção de esporos e de inóculo inicial (Casela et al., 1995; Browing et al., 1977).

De acordo com Vanderplank (1968), temos a resistência vertical e horizontal. A resistência vertical é caracterizada por ser específica a uma certa raça do patógeno, na qual pode ser explicada pelo modelo gene-a-gene (Flor, 1942), neste modelo, ocorre o reconhecimento das moléculas elicitoras (produzidas pelos alelos de avirulência) pelas moléculas receptoras (produzidas pelos alelos de resistência correspondentes), o que resulta no atraso do início da epidemia. Resistência horizontal é mais durável que a vertical, estando presente para todas as raças do patógeno, sendo caracterizada por diminuir a velocidade da doença após o início da epidemia.

Para que medidas adequadas de manejo da resistência sejam concretizadas no controle da doença, é imprescindível conhecer a reação das cultivares ao patógeno, assim, como buscar referências sobre os fatores que podem influenciar a taxa de progresso da doença de modo a aumentar a durabilidade e a estabilidade das cultivares. Nesse sentido, conhecer a composição genética da população do patógeno ajuda determinar se a resistência será quebrada caso ocorra mudanças na estrutura genética do patógeno (Rosewich et al., 1998).

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Caracterização da área de estudo

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Recursos Genéticos & Biotecnologia (LRG&B) e na casa de vegetação do LRG&B com umidade e temperatura controlada, ambos vinculados ao Departamento de Agronomia da Universidade do Estado de Mato Grosso – UNEMAT, Cidade Universitária do *Campus* de Cáceres – Mato Grosso, localizada nas coordenadas “16°07’66” e “57°65’29” longitude.

#### 3.2 Isolados de *Colletotrichum sublineolum*

Foram utilizados 56 isolados monospóricos de *Colletotrichum sublineolum*, 31 coletados no campo experimental da Unemat/Cáceres-MT e 25 provenientes do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo (CNPSo), da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) Sete Lagoas-MG.

Os isolados de 01 a 31 foram coletados em Cáceres-MT, no ano de 2016 sendo sua origem dos seguintes genótipos: Iso-01/cac (201545B022), Iso-02/cac (201545B012), Iso-03/cac (13F24019), Iso-04/cac (14F21021), Iso-05/cac (13F02006), Iso-06/cac (13F23020), Iso-07/cac (12F23006), Iso-08/cac (14F21022), Iso-09/cac (201545B013), Iso-10/cac (CMSXS 7031), Iso-11/cac (201545B020), Iso-12/cac (201545B009), Iso-13/cac (201545B004), Iso-14/cac (14F21019), Iso-15/cac (CMSXS 7027), Iso-16/cac (201545B019), Iso-17/cac (201545B021), Iso-18/cac (CMSXS 7016), Iso-19/cac (201545B005), Iso-20/cac (201545B001), Iso-21/cac (201545B002), Iso-22/cac (201545B015), Iso-23/cac (201545B003), Iso-24/cac (13F26005), Iso-25/cac (201545B014), Iso-26/cac (14F21020), Iso-27/cac (13F23006), Iso-28/cac (14F21006), Iso-29/cac (14F21005), Iso-30/cac (CMSXS 7027) e Iso-31/cac (14F20005).

As folhas de sorgo que apresentavam sintomas da doença foram coletadas e levadas ao laboratório para a desinfestação superficial na sequência de solução de hipoclorito de sódio 1%, álcool 70% e água destilada por um minuto em cada solução e plaqueados em meio de Ágar-Água (AA).

As placas foram incubadas em temperatura de 25°C sob fotoperíodo de 12 horas, por 7 a 8 dias. Transcorrido esse período, foi realizada a obtenção das culturas monospóricas dos isolados onde os conídios foram colocados em microtubos (Eppendorf) contendo 1000 µl de água destilada e esterilizada, agitados e transferidos para placas de Petri contendo Ágar-Água (AA) para a indução da esporulação. Após três dias, culturas monospóricas foram obtidas por meio da retirada dos conídios individualmente do meio AA com o auxílio de um microscópio óptico e, transferidos para placas de Petri contendo meio de cultura Farinha de Aveia, e incubados sob fotoperíodo de 12 horas, em temperatura de 25°C, por sete dias. Posteriormente, discos dos isolados foram colocados em microtubos do tipo Eppendorf de 2mL e armazenados na micoteca a 10°C.

Os isolados 32 a 56 foram obtidos da micoteca da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), no Centro Nacional de Pesquisa de milho e sorgo (CNPMS), em Sete Lagoas-MG, no ano de 2016, sendo sua origem proveniente dos seguintes genótipos: Iso-32/sl (Rancheiro), Iso-33/sl (AGN340), Iso-34/sl (BRS310), Iso-35/sl (BRS310), Iso-36/sl (BRS308), Iso-37/sl (Catui), Iso-38/sl (1G100), Iso-39/sl (BRS330), Iso-40/sl (1G100), Iso-41/sl (Rancheiro), Iso-42/sl (BRS308), Iso-43/sl (BRS304), Iso-44/sl (AGN340), Iso-45/sl (Catui), Iso-46/sl (BRS330), Iso-47/sl (BRS304), Iso-48/sl (BRS308), Iso-49/sl (BRS330), Iso-50/sl (Catui), Iso-51/sl (BRS304), Iso-52/sl (Rancheiro), Iso-53/sl (1G100), Iso-54/sl (BRS308), Iso-55/sl (BRS330) e Iso-56/sl (BRS310).

### **3.3 Extração e amplificação de DNA genômico de *Colletotrichum sublineolum***

Após a obtenção dos isolados monospóricos de *C. sublineolum*, foi realizada a extração de DNA com o kit Wizard<sup>®</sup> Genomic DNA Purification (Promega, Madison, WI), seguindo as recomendações do fabricante. Para a extração do DNA genômico, os isolados foram macerados, individualmente, em nitrogênio líquido até a obtenção de um pó fino, posteriormente, foi adicionado 0,1 mL deste material em microtubos tipo Eppendorf de 1,5 mL.

Inicialmente, foram adicionados 600 µL de “NucleiLysis Solucion” nos microtubos contendo o material macerado, e colocados no vórtex por 3 segundos em

seguida, a mistura foi mantida em banho-maria por 65°C por 15 minutos. Posteriormente, foram adicionados 5 µL de RNase e os tubos foram vertidos 5 vezes delicadamente e, foram incubados em banho-maria a 37°C, por 15 minutos. Após resfriamento por 5 minutos em temperatura ambiente, adicionou-se 200 µL de “Protein Precipitation Solution” e os microtubos foram ao vórtex em alta velocidade por 20 segundos. O material foi centrifugado a 14.000 rpm, por 5 minutos e o sobrenadante transferido para novo microtubo de 1,5 ml, com 600 µL de isopropanol em temperatura ambiente, onde a solução foi misturada por inversão. Os microtubos foram centrifugados a 14.000 rpm por 5 minutos, o sobrenadante descartado e no precipitado foram adicionados 600 µL de etanol 70% em temperatura ambiente. Os tubos foram novamente centrifugados por 14.000 rpm por 3 minutos. O sobrenadante foi descartado e para secagem do precipitado os tubos foram vertidos sobre papel absorvente por 15 minutos.

Os DNAs precipitados foram ressuspensos com água ultrapura autoclavada e colocados na geladeira em overnight para serem utilizados posteriormente.

A qualidade do DNA foi analisada por meio de eletroforese em gel de agarose a 1,0 %. Para a amplificação, 20 primers para locos ISSR foram testados (Tabela 1), destes, onze foram selecionados para representar a variabilidade genética dos isolados de *C. sublineolum* (01, 02, 03, 04, 05, 07, 09, 14, 15, 16 e 18).

As reações de amplificação por PCR foram preparadas em um volume final de 20µL, conforme a Tabela 2. Nas reações foram utilizados tampão 10x; MgCl<sub>2</sub> 2 mM; dNTP's 2,0 mM; Taq DNA polimerase; Primer 2 mM; Formamida e DNA genômico.

Para a amplificação das reações foi utilizado termociclador Aeris Thermal Cycler, onde o DNA foi inicialmente desnaturado em 94°C por 3 minutos, seguido por 35 ciclos de amplificação a 94°C por 30 segundos, T<sub>m</sub> por 30 segundos, 72°C por 30 segundos e uma extensão final de 72°C por 5 minutos, mantendo-se a reação a 4°C até a retirada das amostras do termociclador.

Os produtos da PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose (1,5%) contendo TBE 1x e para definir o tamanho dos fragmentos amplificados foi utilizado o marcador de peso molecular 100 pb DNA *Ladder* e visualizados sob luz UV (Fotodocumentador da marca DNR Bio Imaging System, modelo MicroBIS).

**Tabela 1.** Descrição dos 20 marcadores moleculares ISSR, sequências de bases e temperaturas de anelamento utilizados na identificação da variabilidade molecular dos 56 isolados *Colletotrichum sublineolum*, Cáceres-MT, 2017

| Ordem | Nome da Sequencia | Sequencia (5'----3') | Tm (°C) |
|-------|-------------------|----------------------|---------|
| 01    | UBC 881           | GGGTGGGGTGGGGTG      | 47,00   |
| 02    | AP1               | CAGCAGCAGCAGCAG      | 58,80   |
| 03    | AP3               | GACACGACACGACAC      | 56,20   |
| 04    | AP4               | GACAGACAGACAGACA     | 54,20   |
| 05    | (GTG)6            | GTGGTGGTGGTGGTGGTG   | 64,40   |
| 06    | (GCGT)4           | GTGTGTGTGTGTGTGTGT   | 64,40   |
| 07    | (TG)8GT           | TGTGTGTGTGTGTGTGGT   | 57,60   |
| 08    | (ACTG)            | ACTGACTGACTGACTG     | 49,20   |
| 09    | CAC               | CACCACCACCACCAC      | 58,80   |
| 10    | (CTC)4GC          | CTCCTCCTCCTCGC       | 56,47   |
| 11    | (AG)8TC           | AGAGAGAGAGAGAGAGTC   | 57,60   |
| 12    | (GA)8GG           | GAGAGAGAGAGAGAGG     | 52,60   |
| 13    | (GA)8AT           | GAGAGAGAGAGAGAGAAT   | 54,78   |
| 14    | (AAG)6            | AAGAAGAAGAAGAAGAAG   | 50,80   |
| 15    | UBC 810           | GAGAGAGAGAGAGAGAT    | 43,20   |
| 16    | UBC 817           | CACACACACACACACAA    | 43,20   |
| 17    | UBC 834           | AGAGAGAGAGAGAGAGYT   | 56,50   |
| 18    | UBC 850           | GTGTGTGTGTGTGTGTGYC  | 58,80   |
| 19    | UBC 873           | GACAGACAGACAGACA     | 54,20   |
| 20    | UBC 880           | GGAGAGGAGAGGAGA      | 47,00   |

**Tabela 2.** Componentes do “mix”, respectivas concentrações estoque e volumes utilizados nas reações em cadeia da polimerase (PCR) para a identificação da variabilidade genética em 56 isolados de *Colletotrichum sublineolum*, Cáceres-MT, 2017

| Componentes       | Concentração estoque | Volume da reação (µL) |
|-------------------|----------------------|-----------------------|
| Tampão            | 10X                  | 2,0                   |
| MgCl <sub>2</sub> | 50mM                 | 1,6                   |
| dNTP's            | 2,0mM                | 4,0                   |
| Primers           | 2,0mM                | 3,0                   |
| Formamida         | -                    | 1,0                   |
| Taq polimerase    | -                    | 0,2                   |
| DNA               | -                    | 2,0                   |
| Água Milli Q      | -                    | 6,2                   |
| Total             | -                    | 20                    |

### 3.3.1 Análise estatística

#### 3.3.1.1 Conteúdo de informação de polimorfismo (PIC) e Frequência Alélica

Para a determinação do Conteúdo de informação de polimorfismo (PIC) dos primers utilizou-se o programa Power Marker V.3.25 (Liu e Mouse, 2005).

A frequência alélica em cada locus dos marcadores moleculares em isolados de *C. sublineolum* foi determinada utilizando o programa GenAIEx v.6.5 (Genetic Analysis in Excel) (Peakall e Smouse, 2012) em que:

$$F(A1) = \frac{\text{n}^\circ \text{de alelos A1}}{\text{n}^\circ \text{total de alelosFreq}}$$

#### 3.3.1.2 Estrutura genética da população de isolados de *Colletotrichum sublineolum*

O programa “Structure” (Pritchard et al., 2000), baseado em estatística bayesiana foi utilizado para inferir a estrutura genética dos isolados e definir o número de grupos (k) mais provável entre os isolados de *C. sublineolum* utilizados.

Para isso, foram realizadas 20 corridas para cada valor de K, com 200.000 simulações de “burn-ins” e 500.000 simulações de Monte Carlo de Cadeias de Markov (MCMC). Para definição do K, ou seja, melhor agrupamento que se enquadra nos dados, os resultados foram enviados para o site Structure Harvester.

#### 3.3.1.3 Variabilidade genética via marcadores dominantes (ISSR)

A matriz binária de dissimilaridade genética foi elaborada por meio do registro da presença (1) e da ausência (0) de bandas no perfil eletroforético de cada isolado, na qual foi calculada com base no coeficiente de Jaccard, através da fórmula:

$$S_{ij} = \frac{a}{(a+b+c)}, \text{ em que:}$$

$a$  é o número de bandas polimórficas compartilhadas por  $i$  e  $j$ ;

$b$  é o número de bandas presentes em  $i$  e ausentes em  $j$ ;

e  $c$  é número de bandas presentes em  $j$  e ausentes em  $i$ .

A matriz foi gerada com o auxílio do programa computacional genes (Cruz, 2016).

### 3.3.1.4 Métodos de Agrupamento Hierárquico de UPGMA e de Otimização Tocher

Através da matriz gerada pelo coeficiente de Jaccard foi produzido o dendrograma por meio do Agrupamento Médio entre grupos (UPGMA), por meio do programa R.

Onde a distância entre um indivíduo  $k$  e um grupo formado pelos indivíduos  $i$  e  $j$  é dada através da fórmula:

$$d_{(ij)k} = \frac{d_{ik} + d_{jk}}{2}, \text{ onde:}$$

$d_{(ij)k}$  é obtido pela média das distâncias dos pares de indivíduos ( $i$  e  $k$ ) ( $j$  e  $k$ ), elaborando uma nova matriz com esses valores reduzindo a dimensionalidade passo a passo. Por meio da construção do dendrograma, novas distâncias serão estimadas, de forma que, se um indivíduo  $k$  for incorporado a um grupo ( $ij$ ), a distância deste novo grupo ( $ij.k$ ) em relação ao indivíduo ( $l$ ) ou a outro grupo ( $lm$ ), é dada por:

$$d_{(ij.k)l} = \frac{d_{il} + d_{jl} + d_{kl}}{3}$$

e

$$d_{(ij)lm} = \frac{d_{il} + d_{im} + d_{jl} + d_{jm} + d_{kl} + d_{km}}{6}$$

Também foi determinado o coeficiente de correlação cofenética (CCC) para certificar o ajustamento entre a matriz e o dendrograma gerado pelo método de agrupamento UPGMA.

O método de agrupamento de otimização de Tocher também foi realizado a partir da matriz de dissimilaridade, sendo que a distância entre o indivíduo k e o grupo formado pelos indivíduos ij é dado por:

$$d_{(ij)k} = d_{ij} + d_{jk}, \text{ em que:}$$

$d_{(ij)k}$  = distância entre o grupo ij o genótipo k;

$d_{ik}$  = distância entre o genótipo i e k;

$d_{jk}$  = distância entre o genótipo j e k.

Para a inclusão, ou não, do indivíduo k no grupo é considerado:

$$\frac{d_{(grupo)k}}{n} \leq \theta, \text{ inclui-se o indivíduo k no grupo;}$$

$$\frac{d_{(grupo)k}}{n} > \theta, \text{ o indivíduo k não é incluído no grupo;}$$

sendo n o número de indivíduos que constitui o grupo original.

O agrupamento de otimização de Tocher foi obtido utilizando-se o programa computacional Genes (Cruz, 2016).

### 3.4 Reação de sorgo sacarino e biomassa à *Colletotrichum sublineolum*

Com base no resultado da variabilidade genética por meio do método de agrupamento de UPGMA, foram selecionados 10 isolados de *C. sublineolum* pertencentes aos diferentes agrupamentos genéticos, no qual cinco foram provenientes de Cáceres/MT e cinco de Sete Lagoas/MG. No grupo I foram selecionados os isolados Iso-01/cac, Iso-50/sl, no grupo II os isolados Iso-34/sl, Iso-35/sl, no grupo IIIa os isolados Iso-14/cac, Iso-09/cac, no grupo IIIb os isolados Iso-03/cac, Iso-43/sl, no grupo IV o isolado Iso-28/cac e no grupo V o isolado Iso-53/sl. Esses isolados foram inoculados em dois genótipos de sorgo biomassa: o BRS 716 e o Agri 002-E e dois genótipos de sorgo sacarino: o BRS 511 e o BRS 506, todos provenientes do Centro Nacional de Pesquisa em Milho e Sorgo, Embrapa.

O experimento foi realizado no delineamento inteiramente casualizado (DIC) com três repetições em esquema fatorial (4 genótipos de sorgo X 10 isolados de *C. sublineolum*) mais a testemunha (genótipo inoculado com água destilada, sem a inoculação do patógeno).

Os genótipos de sorgo foram semeados em vasos plásticos de 5 litros contendo substrato comercial Tecnomax. Para o plantio foram semeadas seis sementes em cada vaso e aos 15 dias após a emergência foi realizado desbaste mantendo-se três plantas por vaso que foram mantidas em casa de vegetação até o final do experimento. Foi realizada adubação de cobertura com aplicação de ureia quinzenalmente (5g por vaso) e a umidade dos vasos foi conservada por meio de irrigações em dias alternados com auxílio de regador.

#### **3.4.1 Produção e preparo do inóculo de *Colletotrichum sublineolum***

Para o preparo do inóculo, os isolados monospóricos foram transferidos do meio de conservação para placas de Petri contendo meio de cultura de farinha de aveia e mantidos durante 7 a 8 dias, sob fotoperíodo de 12 horas, a 25°C. Posteriormente, foi adicionado 10 mL de água destilada e autoclavada nas placas contendo a colônia de *C. sublineolum* e realizada a raspagem superficial. Em seguida os mesmos foram colocados em becker contendo água destilada e autoclavada e agitados para a liberação dos conídios e contagem em câmara de Neubauer, onde foi realizada a padronização da concentração de inóculo para 10<sup>6</sup> conídios/mL (Figura 1).

As plantas foram inoculadas 30 dias após o plantio com uma suspensão de conídios no volume de 10 mL/vaso aplicados diretamente nas plantas com o auxílio de pulverizador manual. Após a inoculação, estas foram mantidas ensacadas com saco plástico, transparente, para formar uma condição com alta umidade, permanecendo nesta condição por 18 horas, e posteriormente foram retiradas, permanecendo em casa de vegetação a 26 ± 2°C e umidade relativa de aproximadamente 75 ± 5% (Figura 2).



Figura 1. Preparo e padronização da concentração de conídios de *Colletotrichum sublineolum* para  $10^6$  conídios/mL em câmara de Neubauer para inoculação em genótipos de sorgo biomassa e sacarino em casa de vegetação. **a**: colônia monospórica de *Colletotrichum sublineolum*; **b**: adição de água destilada e autoclavada para raspagem superficial da colônia de *C. sublineolum* e liberação dos conídios; **c**: conídios de *C. sublineolum* em câmara de Neubauer para contagem e padronização do inoculo.

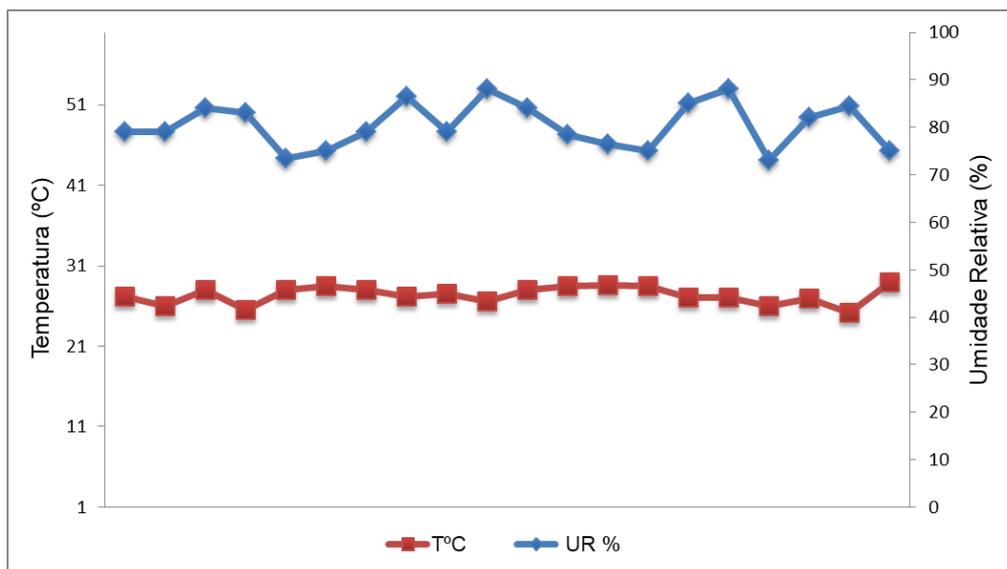


Figura 2. Dados climáticos médios diários no período de condução do experimento na casa de vegetação, Cáceres-MT, 2017.

### 3.4.2 Características avaliadas

#### a) Período de incubação médio

O Período de incubação é considerado como o tempo em dias decorridos desde a inoculação até o aparecimento dos primeiros sintomas. Após a inoculação as folhas de todos os tratamentos foram avaliadas diariamente para determinar o período de incubação médio (PI), verificada com o auxílio de uma lupa de aumento 10x.

#### b) Severidade da doença e Comprimento e Largura da Lesão

As avaliações da severidade da doença foram realizadas a partir de quinze dias após a inoculação, ocorrendo semanalmente, no qual, foram realizadas quatro avaliações com o auxílio de uma escala de notas (Sharma, 1983), variando de 1 a 9. Sendo a nota 1 = 0%, 2 = 2,5%, 3 = 5%, 4 = 10%, 5 = 20%, 6 = 35%, 7 = 50%, 8 = 75%, 9 = 100%.

As avaliações de comprimento e largura da lesão também se iniciaram 15 dias após a inoculação. Para realizar as medições, folhas e lesões das plantas foram marcadas, avaliando-se 27 lesões por tratamento. Estas foram avaliadas com intervalo de dois dias, no qual foram realizadas seis avaliações, medidas com auxílio de um paquímetro digital.

Após as medições de comprimento e largura da lesão, foi calculada a área lesionada, utilizando a fórmula  $\pi \cdot C \cdot L / 4$  para o cálculo da área de uma elipse, onde: C é o comprimento da lesão e L é a largura da lesão. Posteriormente, os valores obtidos da área lesionada foram transformados para obtenção da área abaixo da curva de expansão da área da lesão (AAEAL) e os valores de severidade da doença foram transformados para obtenção da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) através da equação proposta por Shaner e Finney (1977).

$$AACPD = \sum_{i=1}^{n-1} [(Y_i + Y_{i+1}) / 2] \cdot (t_{i+1} - t_i) \quad , \text{ em que:}$$

$Y_i$  e  $Y_{i+1}$  = são duas avaliações realizadas sucessivas;

$t_i$  e  $t_{i+1}$  = é o intervalo em dias entre duas avaliações;  
e  $n$  = é o número total de observações.

### **c) Porcentagem da área foliar doente (%AFD)**

No 38º dia após a inoculação, foi realizada a amostragem do terço médio das plantas. Foram coletadas quinze folhas por parcela, que foram levadas ao laboratório para a avaliação da porcentagem de área foliar doente ( $\text{cm}^2$ ) com o auxílio do sistema de análise de imagem foliar WinDIAS 3 v3.2., que consiste em um sistema específico para analisar imagens coloridas para mediar a porcentagem de área foliar doente (%AFD), de forma que é estabelecido os efeitos de cores, onde a cor primária define o conjunto de cores da área do tecido saudável e, as cores secundárias e terciárias, definem as áreas doentes.

### **3.4.3 Análises Estatísticas**

#### **3.4.3.1 Análise de variância**

Os dados obtidos de PI, AACPD, ACEAL e %AFD foram submetidos à análise de variância, considerando o esquema fatorial no delineamento inteiramente casualizado, sendo o valor de cada observação fornecido pelo seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = m + A_i + B_j + (AB)_{ij} + e_{ijk},$$

Em que:

$Y_{ijk}$  = é o valor observado para a variável em estudo referente a K-ésima repetição da combinação do I-ésimo nível do Fator A com o J-ésimo nível do Fator B;

$m$  = média de todas as unidades experimentais para a variável em estudo;

$A_i$  = efeito do I-ésimo nível do Fator A no valor observado  $Y_{ijk}$ ;

$B_j$  = efeito do J-ésimo nível do Fator B no valor observado  $Y_{ijk}$ ;

$(AB)_{ij}$  = efeito da interação do I-ésimo nível do Fator A com o J-ésimo nível do Fator B;

$e_{ijk}$  = erro associado a observação  $Y_{ijk}$ .

O esquema utilizado na análise de variância e as esperanças de quadrados médios para a fonte de variação do modelo estatístico são apresentados no Quadro um.

Quadro 1. Análise de variância das características avaliadas no experimento em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial

| FV              | GL              | SQ      | QM    | F         |
|-----------------|-----------------|---------|-------|-----------|
| Fator A         | (I - 1)         | SQA     | QMA   | $F_A$     |
| Fator B         | (J - 1)         | SQB     | QMB   | $F_B$     |
| Interação (AxB) | (I - 1) (J - 1) | SQAxB   | QMAxB | $F_{AxB}$ |
| Tratamentos     | (IJ - 1)        | SQT     | QMT   | $F_T$     |
| Resíduo         | IJ(K - 1)       | SQR     | QMR   | -         |
| Total           | IJK - 1         | SQTotal | -     | -         |

Em que:

$$SQTotal = \sum_{i=1, j=1, k=1}^{I, J, K} Y_{ijk}^2 - C$$

$$SQT = \frac{1}{k} \sum_{i=1, j=1}^{i, j} (AxB)_{ij}^2 - C$$

$$SQR = SQTotal - SQT$$

$$SQA = \frac{1}{jk} \sum_{i=1}^i A^2 - C$$

$$SQB = \frac{1}{ik} \sum_{j=1}^j B^2 - C$$

$$SQAxB = SQT - (SQA + SQB)$$

$$QMT = \frac{SQT}{(ij - 1)}$$

$$QMR = \frac{SQR}{ij(k-1)}$$

$$QMA = \frac{SQA}{(i-1)}$$

$$QMB = \frac{SQB}{(j-1)}$$

$$QMAxB = \frac{SQAxB}{(i-1)(j-1)}$$

Na sequência, foi realizado o agrupamento de médias segundo Scott & Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

### 3.4.3.2 Estimadores de correlação simples

Foi empregado o método de estimadores de Correlação Simples entre as variáveis, por meio do teste t, para determinar a correlação entre duas variáveis aleatórias **X** e **Y**, no qual foi utilizado a seguinte expressão:

$$r = \frac{C\hat{o}v(X,Y)}{\sqrt{\hat{V}(X)\hat{V}(Y)}} = \frac{\sum x_i y_i}{\sqrt{\sum x_i^2 \sum y_i^2}}$$

As análises foram realizadas com emprego do recurso computacional Genes (Cruz, 2016).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Análise descritiva da variabilidade dos isolados de *Colletotrichum sublineolum*

De acordo com os resultados, dentre os 11 *primers* selecionados, foi possível verificar a presença de 42 bandas, todas polimórficas, ou seja, bandas que estiveram ausentes em pelo menos um isolado. Resultados próximos a estes foi observado por Parreira et al., (2016), que avaliando a variabilidade genética de *C. graminicola* utilizando 15 *primers* ISSR observaram a presença de 66 bandas polimórficas.

O número de bandas amplificadas por *primer* variou de 01 (AP3) a 08 (AP1). Dentre os *primers* utilizados, o AP1 apresentou o maior número de bandas amplificadas, com 08 bandas polimórficas, apresentando-se também como mais informativo na demonstração da variabilidade genética dos isolados de *C. sublineolum* (Tabela 3). O gel de eletroforese ilustrando o produto da amplificação da PCR do iniciador ISSR AP1 de 56 isolados de *C. sublineolum* encontram-se na Figura 3.

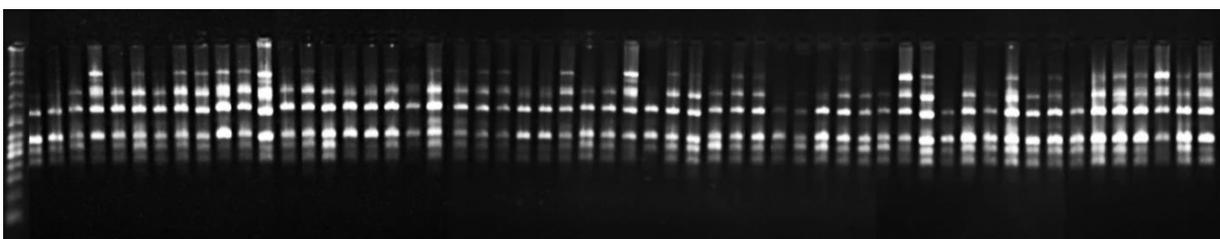


Figura 3. Produto de amplificação da PCR do iniciador ISSR (AP1), do DNA genômico de cinquenta e seis isolados de *Colletotrichum sublineolum* utilizando marcador molecular  $\lambda$  de 100pb, Cáceres-MT, 2017.

Na Tabela 3, são apresentados o tamanho de fragmento que variou de 400 a 3000 pb e o conteúdo de informação polimórfica (PIC), que variou de 0,03 à 0,47, com média de 0,29. De acordo com a classificação proposta por Botstein et al., (1980), marcadores moleculares com valores do conteúdo de informação polimórfica

(PIC) maiores que 0,50 são considerados muito informativos, valores variando entre 0,25 e 0,50 são mediantemente informativos e valores inferiores a 0,25 são marcadores pouco informativos.

Com base nesta classificação, dentre os 11 *primers* utilizados, sete apresentaram-se mediantemente informativos com valores de PIC acima de 0,25 (AP1, AP4, (TG)8GT, CAC, UBC 817, UBC 850 e UBC 881), sendo estes os mais informativos para *C. sublineolum*. Segundo Boza et al., (2013), quanto maior o polimorfismo (PIC) melhor é a identificação da diversidade genética da amostra. Desta forma, os *primers* que apresentaram maiores valores de PIC são os mais indicados para o estudo da variabilidade genética de *C. sublineolum*.

Tabela 3. Nome dos 11 marcadores moleculares ISSR selecionados, tamanho dos fragmentos gerados na PCR e o conteúdo de informação polimórfica (PIC) representando a variabilidade genética dos 56 isolados *Colletotrichum sublineolum*, Cáceres-MT, 2017

| <b>Primers</b> | <b>Tamanho do fragmento (pb)</b> | <b>PIC</b> |
|----------------|----------------------------------|------------|
| AP1            | 2340 – 400                       | 0,47       |
| AP3            | 1000                             | 0,03       |
| AP4            | 1027 – 700                       | 0,33       |
| (GTG)6         | 2294 – 894                       | 0,24       |
| (TG)8GT        | 1557 – 700                       | 0,46       |
| CAC            | 2600 – 1000                      | 0,33       |
| (AAG)6         | 878 – 458                        | 0,22       |
| UBC 810        | 1872 – 518                       | 0,14       |
| UBC 817        | 3000 – 862                       | 0,31       |
| UBC 850        | 1094 – 754                       | 0,35       |
| UBC 881        | 2085 – 820                       | 0,36       |
| Max. – Min.    | 3000 – 400                       | -          |
| Média          | -                                | 0,29       |

Na Figura 04, verifica-se a frequência alélica em cada loco, demonstrando o quão comum um alelo é na população de *C. sublineolum* em estudo. De acordo com os resultados, a maior frequência alélica foi observada nos locos 06, 09, 10 e 24 com 98% de frequência, estando presente em 55 isolados de *C. sublineolum*, e a menor frequência alélica foi observada no loco 02 com 5% de frequência alélica, sendo

detectada em 03 isolados de *C. sublineolum*. De modo geral, foi observada diferenças na frequência alélica nos locos dos isolados de *C. sublineolum*, indicando existência de variabilidade entre eles.

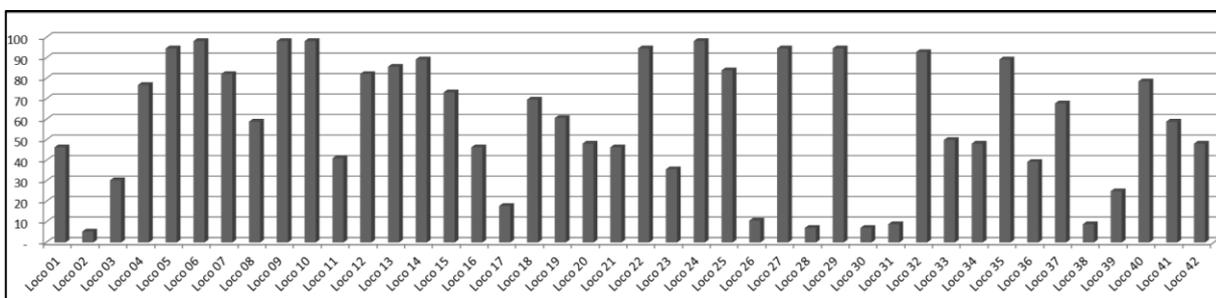


Figura 4. Frequência alélica de 42 locos ISSR de 56 isolados monospóricos de *Colletotrichum sublineolum*, Cáceres/MT, 2017.

#### 4.2 Estrutura genética da população de isolados de *Colletotrichum sublineolum*

O programa “Structure”, baseado em estatística bayesiana, inferiu a estrutura da população de isolados de *C. sublineolum* através da definição do número de grupos ( $\Delta k$ ) sendo que entre os isolados de *C. sublineolum*, o melhor K, ou seja, melhor agrupamento que se enquadra nos dados foi para representação de três grupos ( $k=3$ ), (Figura 5).

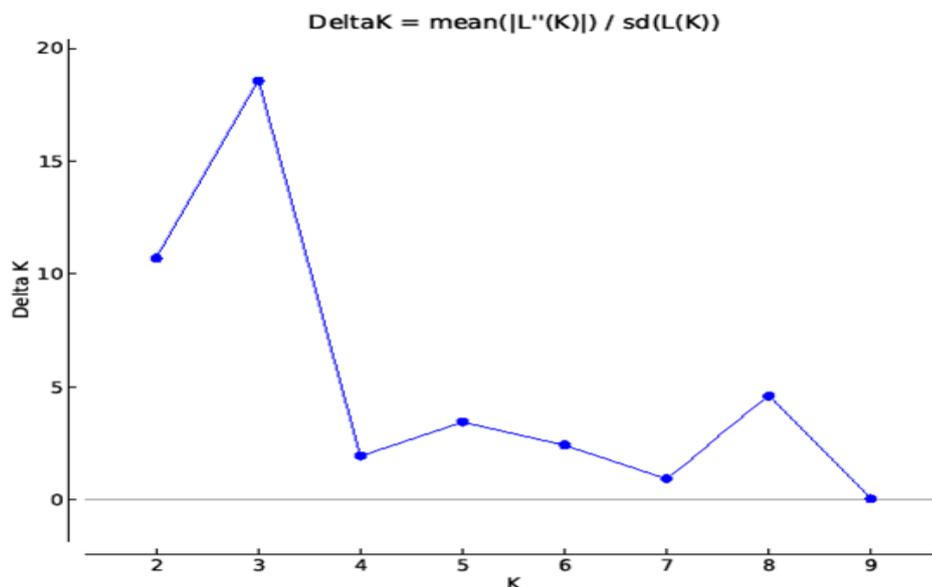


Figura 5. Análise gráfica do número de grupos ( $\Delta K$ ) para isolados monospóricos de *Colletotrichum sublineolum* de acordo com as informações dos 11 marcadores de ISSR, por meio do programa Structure, Cáceres-MT, 2017.

Por meio do agrupamento do “Structure” (Figura 6), foi possível observar que os isolados de *C. sublineolum* estão estruturados em três grupos. O grupo I (vermelho) alocou 21 isolados de *C. sublineolum*, destes 17 provenientes de Cáceres-MT. O grupo II (verde) agrupou 20 isolados, destes 16 com provenientes de Sete Lagoas-MG e o grupo III (azul) agrupou 15 isolados, destes 10 provenientes de Cáceres-MT.

Observa-se que os isolados de *C. sublineolum* provenientes de Sete Lagoas/MG tenderam a se alocar em um grupo e os de Cáceres/MT nos outros dois grupos. A análise de Structure agrupa os indivíduos de acordo com as diferenças genéticas, sem a necessidade de uma pré-identificação dos indivíduos (Rossi et al., 2014), porém, verifica-se uma tendência no agrupamento dos isolados de acordo com sua procedência geográfica e verifica-se ainda que, a maior parte dos isolados possui uma estrutura homogênea dentro de cada grupo, indicando que esses isolados estão estruturados geneticamente.

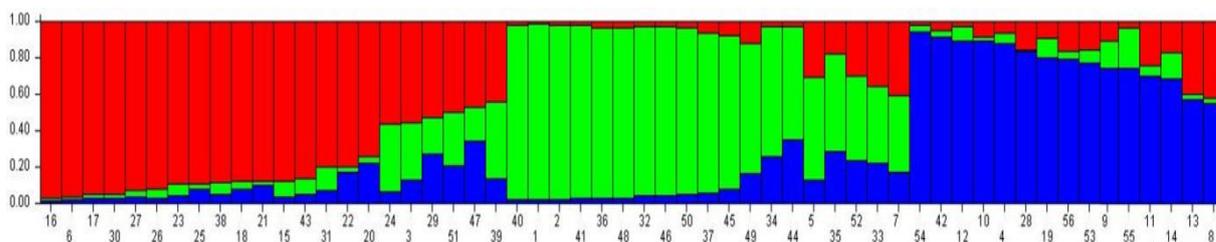


Figura 6. Representação dos grupos de 56 isolados monospóricos de *Colletotrichum sublineolum*, segundo dados moleculares com 11 primers ISSRs utilizando o programa “Structure”. Os isolados estão representados por barras verticais com coloração de acordo com o grupo ao qual pertencem: grupo I – vermelho, grupo II – verde e grupo III – azul. (três grupos, K = 3), Cáceres-MT, 2017.

#### 4.3 Agrupamento Pelo Método de UPGMA

Na figura 7, está apresentado o dendrograma pelo método UPGMA, onde foi possível observar a distribuição dos isolados de *C. sublineolum*, com a formação de seis grupos, demonstrando que os isolados apresentam variabilidade. Essa variabilidade genética apresentada pelos patógenos dificultam a obtenção de plantas resistentes. Desse modo, é importante conhecer a variabilidade genética presente entre os isolados do patógeno, neste sentido, o uso da técnica molecular auxilia no estudo da dinâmica populacional do patógeno (Valério, et al., 2000; Parreira et al., 2010).

O grupo I foi formado por treze isolados, destes, onze são provenientes de Sete Lagoas e dois provenientes de Cáceres/MT, sendo estes isolados mais próximos geneticamente, com base nas informações geradas pelos marcadores ISSR.

Os grupos II e V foram formados por três isolados do mesmo local de origem, todos provenientes de Sete Lagoas/MG. Ainda no grupo II, verificou-se que os isolados Iso-34/sl e Iso-44/sl (provenientes de Sete Lagoas/MG) não apresentam diferença genética, sendo os mais similares entre os isolados em estudo, sugerindo que estes isolados possivelmente pertencem a uma mesma raça.

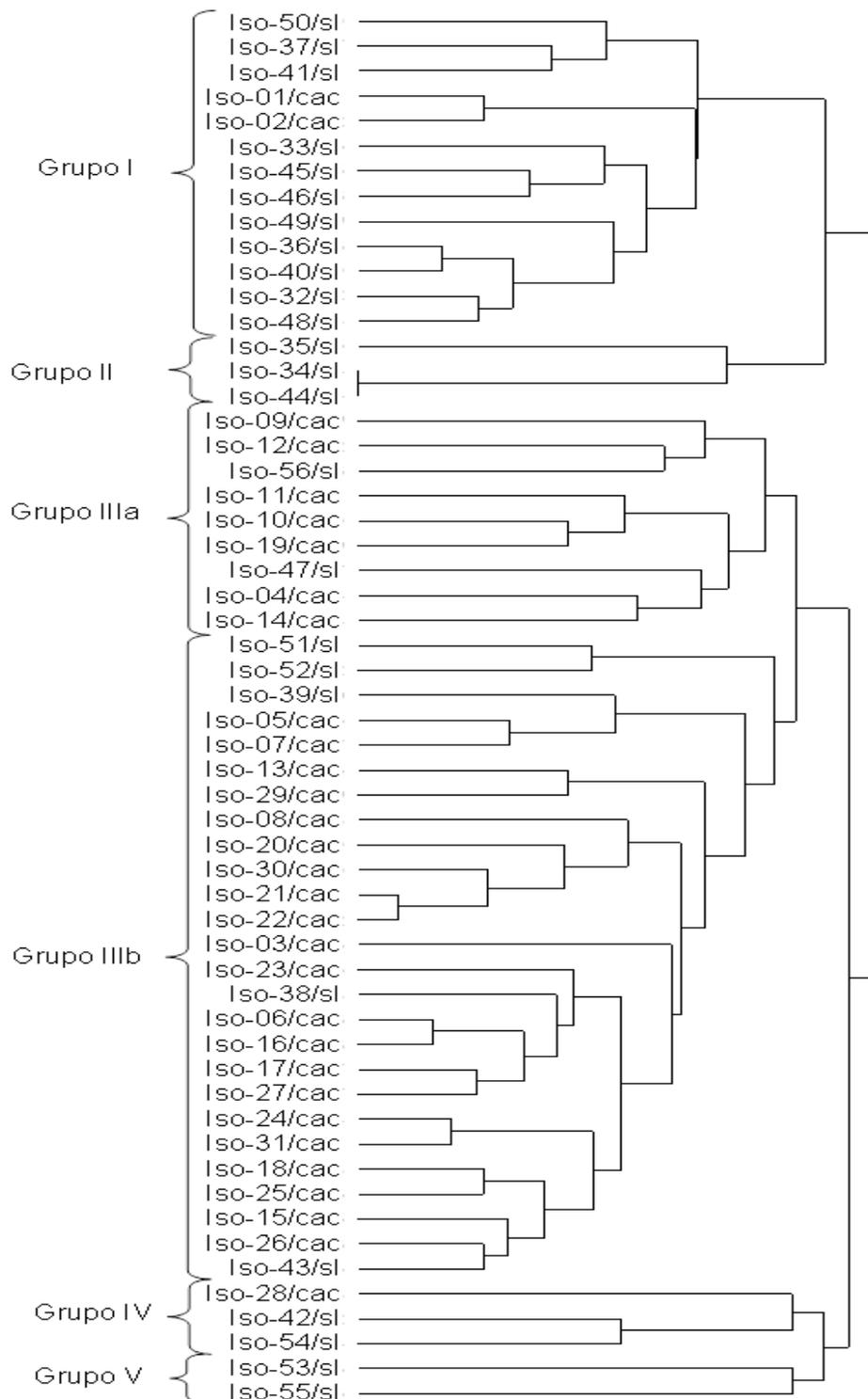


Figura 7. Dendrograma representativo da análise de agrupamento genético de 56 isolados de *Colletotrichum sublineolum*, obtido pelo Método de Agrupamento UPGMA a partir do “software” R, Cáceres-MT, 2017.

O grupo III alocou o maior número de isolados (trinta e cinco), por esse motivo o grupo foi subdividido em IIIa e IIIb, onde o grupo IIIa foi composto por nove isolados, destes sete isolados são provenientes de Cáceres-MT e; o grupo IIIb foi formado por vinte e seis isolados sendo 21 provenientes de Cáceres/MT e cinco de Sete Lagoas/MG, onde a menor distância genética foi observada entre os isolados Iso-21/cac e Iso-22/cac.

Esses resultados indicam que os isolados de Cáceres/MT e Sete Lagoas/MG apresentam variabilidade de acordo com a procedência, pois, foram observados em diferentes grupos genéticos. Resultados semelhantes também foram observados por Silva (2009), onde avaliando variabilidade genética entre diferentes isolados de *C. sublineolum* provenientes de diferentes locais do país verificou-se a presença de variabilidade entre os isolados dos diferentes locais de procedência.

Embora a maioria dos isolados oriundos de um mesmo local geográfico tendeu a se agrupar, alguns isolados geograficamente distantes alocaram-se em um mesmo grupo genético. De acordo com Cardwel et. al (1989), o patógeno pode ser disseminado a longas distâncias por meio de sementes infectadas pois essas sementes são fonte de inóculo e promovem intercâmbio do patógeno entre as regiões produtoras. Possivelmente, isso pode ter contribuído para que os isolados geograficamente distantes apresentassem semelhança genética.

Com base no coeficiente de correlação cofenética (CCC) aplicado no método de agrupamento, observou-se valores significativos para o método de agrupamento médio entre grupos (UPGMA). O coeficiente de correlação cofenética (CCC) apresentou valor de 0,70 entre as distâncias obtidas na matriz de dissimilaridade e a matriz cofenética, demonstrando confiabilidade na relação entre a matriz de dissimilaridade e o dendrograma gerado pelo UPGMA, pois segundo Rohlf (1970), valores de CCC superiores a 0,70 refletem boa concordância entre as matrizes e o dendrograma gerado a partir do conjunto de dados. Além disso, de acordo com Cruz e Carneiro (2003), quanto maior o CCC menor será a distorção provocada ao agrupar os dados, sendo confirmado no presente estudo, em que o CCC foi alto e a distorção apresentou valor de 3,96% e o estresse foi de 19,90%.

#### 4.4 Agrupamento de Tocher

O agrupamento pelo método de Otimização de Tocher possibilitou a formação de oito grupos (Tabela 4) dos 56 isolados estudados. A formação dos diferentes grupos evidencia a variabilidade presente entre os isolados de *C. sublineolum*, indicando os mais similares e mais divergentes, pois, neste método de agrupamento, os grupos são formados de forma que exista homogeneidade dentro do grupo e heterogeneidade entre grupos, ou seja, agrupa os indivíduos mantendo o critério de que as distâncias intragrupos sejam sempre menores do que as distâncias intergrupos (Cruz e Regazzi, 2001).

Tabela 4. Representação do agrupamento gerado pelo método de otimização de Tocher com base na dissimilaridade entre os 56 isolados monospóricos de *Colletotrichum sublineolum*, Cáceres-MT, 2017

| <b>Grupos</b> | <b>Isolados</b>   | <b>% de isolados</b> |
|---------------|---|----------------------|
| I             | Iso-34/sl, Iso-44/sl, Iso-36/sl, Iso-40/sl, Iso-48/sl, Iso-32/sl, Iso-50/sl, Iso-41/sl, Iso-37/sl   | 16,07                |
| II            | Iso-21/cac, Iso-22/cac, Iso-30/cac, Iso-06/cac, Iso-16/cac, Iso-23/cac, Iso-20/cac, Iso-17/cac, Iso-38/sl, Iso-27/cac, Iso-26/cac, Iso-15/cac, Iso-18/cac, Iso-25/cac, Iso-43/sl, Iso-31/cac, Iso-24/cac, Iso-13/cac, Iso-39/sl, Iso-03/cac, Iso-51/sl, Iso-08/cac, Iso-56/sl | 41,07                |
| III           | Iso-01/cac, Iso-02/cac, Iso-46/sl, Iso-45/sl, Iso-33/sl, Iso-49/sl, Iso-05/cac  | 12,50                |
| IV            | Iso-10/cac, Iso-19/cac, Iso-11/cac, Iso-04/cac, Iso-12/cac, Iso-47/sl, Iso-14/cac, Iso-09/cac   | 14,28                |
| V             | Iso-42/sl, Iso-54/sl, Iso-28/cac  | 5,35                 |
| VI            | Iso-29/cac e Iso-52/sl  | 3,57                 |
| VII           | Iso-53/sl e Iso-55/sl   | 3,57                 |
| VIII          | Iso-07/cac e Iso-35/sl  | 3,57                 |
| <b>TOTAL</b>  | <b>56</b>   | <b>100,0</b>         |

A formação dos grupos pelo método Otimização de Tocher ocorreu de forma semelhante ao agrupamento do método hierárquico UPGMA, embora não idêntica. O grupo I foi formado por 09 isolados (16,07%), todos provenientes de Sete Lagoas-MG, mostrando a similaridade entre eles, pois de acordo com Bertran et al., (2006) os indivíduos contidos em um mesmo grupo indica que estes compartilham maior similaridade genética.

O grupo II alocou a maioria dos isolados, reunindo 28 isolados (41,07% dos isolados), sendo 20 provenientes de Cáceres/MT e 8 de Sete Lagoas/MG. O grupo III alocou 07 isolados (12,5%), sendo quatro de Sete Lagoas/MG. O grupo IV alocou 08 isolados de *C. sublineolum*. Destes, apenas um (Iso-47/sl) proveniente de Sete Lagoas-MG, mantendo o mesmo agrupamento que ocorreu no método UPGMA (grupo IIIa). Verifica-se uma tendência de agrupamento de acordo com o local de origem dos isolados. Resultados similares a estes foram observado por Santos et al., (2015) onde avaliando a diversidade genotípica e patogênica de *Colletotrichum musae* no estado de Pernambuco com marcadores ISSR, verificou uma tendência de agrupamento entre isolados coletados no mesmo local geográfico.

O grupo V foi formado por três isolados (5,35%), assim como ocorreu no agrupamento UPGMA, no qual são dois isolados provenientes de Sete Lagoas/MG e um de Cáceres/MT.

Os grupos VI, VII e VIII alocaram apenas dois isolados (3,57%) em cada, no qual o grupo VI e VIII alocaram um isolado de Cáceres/MT e um de Sete Lagoas/MG e o grupo VII alocou isolados de Sete Lagoas/MG, sugerindo que estes sejam os mais divergentes em relação aos demais isolados de *C. sublineolum* analisados, uma vez que, grupos formados por apenas um ou poucos indivíduos, indicam que estes indivíduos sejam os mais divergentes em relação aos demais (Benitez et al., 2011).

Verifica-se que os dois métodos de agrupamentos são complementares e auxiliam na indicação dos isolados mais divergentes. Além disso, a concordância entre os métodos de agrupamento UPGMA e de Otimização de Tocher na discriminação dos isolados mais divergentes e mais similares, fornecem subsídios para a realização de inferências mais seguras a respeito da variabilidade entre os isolados avaliados.

#### 4.5 Análise de Variância

De acordo com a análise de variância (Tabela 5), pode-se observar que houve diferença significativa ( $P < 0,05$ ) pelo teste F para a interação genótipos de sorgo X isolados de *C. sublineolum* (G x Iso), portanto o agrupamento de médias pelo teste Scott & Knott foi realizado quanto à reação de cada genótipo em relação aos diferentes isolados.

Diferenças significativas também foram observadas em relação à testemunha, mostrando que há diferenças entre a testemunha e os tratamentos.

Tabela 5. Resumo de análise de variância de dois genótipos de sorgo biomassa e dois genótipos de sorgo sacarino, inoculados com 10 isolados de *Colletotrichum sublineolum*, Cáceres-MT, 2017

| FV            | GL | Quadrados Médios <sup>1/</sup> |                         |               |                       |
|---------------|----|--------------------------------|-------------------------|---------------|-----------------------|
|               |    | PI                             | AACEAL                  | AACPD         | % AFD                 |
| Genótipos     | 3  | 0,3591 <sup>ns</sup>           | 5371,3137*              | 313587,0269** | 308,7653**            |
| Isolados      | 9  | 4,5451**                       | 1157,3488 <sup>ns</sup> | 44796,2225**  | 21,1461 <sup>ns</sup> |
| Gen x Iso     | 27 | 0,2241**                       | 1249,4678**             | 8242,0712**   | 41,6255**             |
| Tratamento    | 39 | 1,2316**                       | 1192,8606**             | 40165,7181**  | 42,5062**             |
| Trat. + Test. | 40 | 52,7289**                      | 1437,1435**             | 43288,4997**  | 41,8751**             |
| Testemunha    | 1  | 2061,1222**                    | 10964,1741**            | 165076,9820** | 17,2613**             |
| Resíduo       | 82 | 0,3016                         | 558,9523                | 1582,2916     | 4,6709                |
| CV%           | -  | 14,46                          | 59,98                   | 15,08         | 152,78                |

<sup>1/</sup> PI = período de incubação; AACEAL = área abaixo da curva da expansão da área da lesão; AACPD = área abaixo da curva de progresso da doença; %AFD = porcentagem de área foliar doente.

\* e \*\* = significativo ao nível de 1 ou 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F, respectivamente.

Não houve diferenças significativas em relação ao fator isolado para as variáveis área abaixo da curva da expansão da área da lesão (AACEAL) e porcentagem de área doente (%AFD), (Tabela 5).

#### 4.5.1 Agrupamento de médias pelo método de Scott-Knott

De acordo com o período de incubação, os genótipos apresentaram reação similar em relação a todos os isolados, formando apenas um grupo de médias, com médias variando de 3 a 4 dias no período de incubação (Tabela 6). Resultados similares quanto ao período de incubação foi observado por Sussel (2005), em que caracterizando isolados de *C. lagenarium* verificou o período de incubação variando de dois a sete dias.

Tabela 6. Agrupamento de médias dos valores do período de incubação (PI) de 10 isolados de *Colletotrichum sublineolum* em genótipos de sorgo biomassa (BRS 716 e Agri 002-E) e sacarino (BRS 511 e BRS 506), Cáceres-MT, 2017

| ISOLADOS <sup>2/</sup> | PI <sup>1/</sup>      |            |         |         |
|------------------------|-----------------------|------------|---------|---------|
|                        | BRS 716               | Agri 002-E | BRS 511 | BRS 506 |
| Iso-01/cac             | 4,55 Aa <sup>3/</sup> | 4,55 Aa    | 4,00 Aa | 4,27 Aa |
| Iso-50/sl              | 4,33 Aa               | 4,44 Aa    | 4,44 Aa | 5,00 Aa |
| Iso-34/sl              | 4,00 Aa               | 4,33 Aa    | 4,22 Aa | 4,11 Aa |
| Iso-35/sl              | 4,44 Aa               | 4,33 Aa    | 4,22 Aa | 4,00 Aa |
| Iso-14/cac             | 3,00 Ab               | 3,00 Ab    | 3,00 Ab | 3,00 Ab |
| Iso-09/cac             | 3,11 Ab               | 3,33 Ab    | 3,44 Ab | 3,55 Ab |
| Iso-03/cac             | 3,11 Ab               | 3,50 Ab    | 3,33 Ab | 3,11 Ab |
| Iso-43/sl              | 3,66 Ab               | 3,00 Ab    | 3,00 Ab | 3,11 Ab |
| Iso-28/cac             | 3,11 Ab               | 3,55 Ab    | 3,00 Ab | 3,22 Ab |
| Iso-53/sl              | 4,11 Aa               | 4,99 Aa    | 4,22 Aa | 4,00 Aa |

<sup>1/</sup> Período de incubação.

<sup>2/</sup> Cac= Cáceres/MT, sl= Sete Lagoas/MG.

<sup>3/</sup> Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na HORIZONTAL e minúscula na VERTICAL constituem grupo estatisticamente homogêneo pelo método de Scott-Knott.

Em relação aos isolados para cada genótipo, todos os genótipos apresentaram o mesmo agrupamento de média formando dois grupos, onde os isolados Iso-14/cac, Iso-09/cac, Iso-03/cac, Iso-43/sl e Iso-28/cac apresentaram o

menor período de incubação (em média 3 dias), demonstrando que estes isolados são os mais agressivos, uma vez que a expressão dos sintomas iniciais ocorrem de forma mais precoce, assim, possibilita maior número de ciclos do patógeno no transcorrer de uma epidemia.

Em relação à área abaixo da curva de expansão e a área da lesão (AACEAL) (Tabela 7), a maioria dos genótipos formaram apenas um grupo de médias em relação aos isolados. Para os isolados Iso-14/cac, Iso-03/cac e Iso-28/cac os genótipos formaram dois grupos de médias. Um grupo constituído pelos genótipos BRS 716, BRS 511 e BRS 506 e o outro constituído apenas pelo genótipo Agri 002-E, apresentando maior AACEAL, sendo a maior AACEAL podendo estar relacionada a maior suscetibilidade do genótipo.

Quanto a AACEAL entre os isolados considerando cada genótipo, os genótipos BRS 716, BRS 511 e BRS 506 não obtiveram diferença e apresentaram AACEAL menor em relação ao genótipo Agri 002-E, em que os isolados apresentaram diferenças quanto a AACEAL.

Para o genótipo Agri 002-E, os isolados Iso-01/cac, Iso-35/sl, Iso-14/cac, Iso-09/cac, Iso-03/cac, Iso-28/cac, Iso-53/sl, que são isolados geneticamente diferentes (Figura 7), apresentaram maior crescimento de área doente (Tabela 7), destes, apenas os isolados Iso-35/sl e Iso-53/sl são provenientes de Sete Lagoas/MG, os demais são de Cáceres/MT, mostrando maior agressividade expressa pelos patógenos provenientes deste local. Segundo Buiate (2009), essas informações sobre a agressividade dos isolados são de suma importância para conhecer a variabilidade dos patógenos, além de, auxiliar o melhorista na escolha dos melhores genótipos para cada localidade.

De acordo com a AACPD (Tabela 8), a maior severidade da doença foi observada para o genótipo Agri 002-E em relação a todos os isolados, apresentando maior AACPD e demonstrando que este genótipo é o mais suscetível dentre os genótipos em estudo. Essa suscetibilidade pode ser afirmada, pois, de acordo com Bergamin Filho e Amorim (1996), a curva de progresso da doença (AACPD) é a melhor forma de representação de uma doença, pois, por meio dela vários componentes epidemiológicos como porcentagem de área doente e crescimento da lesão podem ser caracterizados e assim estratégias de controles e níveis futuros da doença podem ser previstos.

Tabela 7. Área abaixo da curva de expansão da área da lesão (AACEAL) em genótipos de sorgo biomassa (BRS 716 e Agri 002-E) e sacarino (BRS 511 e BRS 506), inoculados com diferentes isolados de *Colletotrichum sublineolum*, Cáceres-MT, 2017

| ISOLADOS <sup>2/</sup> | AACEAL <sup>1/</sup>   |            |          |          |
|------------------------|------------------------|------------|----------|----------|
|                        | BRS 716                | Agri 002-E | BRS 511  | BRS 506  |
| Iso-01/cac             | 57,65 Aa <sup>3/</sup> | 77,84 Aa   | 55,64 Aa | 62,49 Aa |
| Iso-50/sl              | 64,69 Aa               | 48,34 Ab   | 57,12 Aa | 43,45 Aa |
| Iso-34/sl              | 45,12 Aa               | 32,28 Ab   | 35,29 Aa | 59,80 Aa |
| Iso-35/sl              | 47,40 Aa               | 75,94 Aa   | 50,48 Aa | 57,15 Aa |
| Iso-14/cac             | 62,87 Ba               | 109,99 Aa  | 65,84 Ba | 49,13 Ba |
| Iso-09/cac             | 65,71 Aa               | 100,23 Aa  | 57,69 Aa | 59,68 Aa |
| Iso-03/cac             | 50,51 Ba               | 126,68 Aa  | 50,62 Ba | 53,39 Ba |
| Iso-43/sl              | 51,51 Aa               | 48,38 Ab   | 42,51 Aa | 67,01 Aa |
| Iso-28/cac             | 56,24 Ba               | 102,96 Aa  | 52,35 Ba | 70,41 Ba |
| Iso-53/sl              | 52,92 Aa               | 85,69 Aa   | 41,68 Aa | 53,41 Aa |

<sup>1/</sup> Área abaixo da curva de expansão da área da lesão.

<sup>2/</sup> Cac= Cáceres/MT, sl= Sete Lagoas/MG.

<sup>3/</sup> Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na HORIZONTAL e minúscula na VERTICAL constituem grupo estatisticamente homogêneo pelo método de Scott-Knott.

Os genótipos de sorgo biomassa BRS 716, sorgo sacarino BRS 511 e BRS 506, tanto para AACEAL quanto para AACPD obtiveram baixo progresso da doença, apresentando resistência do tipo dilatória que é caracterizada por apresentar menor taxa de desenvolvimento da doença (Guimarães et al., 1998; Casela et al., 2001). Esses resultados indicam que esses genótipos que apresentaram menor suscetibilidade podem ser genótipos com fontes potenciais de resistência a *C. sublineolum*.

Os genótipos de sorgo sacarino (BRS 511 e BRS 506), para os isolados Iso-14/cac e Iso-43/sl apresentaram menor AACPD (Tabela 8), podendo-se dizer que esses genótipos apresentaram-se menos suscetíveis.

Em relação a severidade de cada isolado de *C. sublineolum* nos genótipos BRS 716 e Agri 002-E (Tabela 8), a menor AACPD foi observada nos isolados provenientes de Sete Lagoas (Iso-50/sl, Iso-34/sl, Iso-35/sl e Iso-53/sl), confirmando menor agressividade desses isolados pois, estes também apresentaram menor AACEAL.

Tabela 8. Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), em genótipos de sorgo biomassa BRS 716, Agri 002-E e genótipos de sorgo sacarino BRS 511 e BRS 506, inoculados com dez isolados de *Colletotrichum sublineolum*, Cáceres-MT, 2017

| ISOLADOS <sup>2/</sup> | AACPD <sup>1/</sup>     |            |           |           |
|------------------------|-------------------------|------------|-----------|-----------|
|                        | BRS 716                 | Agri 002-E | BRS 511   | BRS 506   |
| Iso-01/cac             | 274,16 Ba <sup>3/</sup> | 274,16 Aa  | 166,25 Cb | 227,50 Ba |
| Iso-50/sl              | 157,50 Bc               | 262,50 Ab  | 180,83 Bb | 157,50 Ba |
| Iso-34/sl              | 154,58 Bc               | 285,83 Ab  | 169,16 Bb | 218,75 Ba |
| Iso-35/sl              | 154,58 Bc               | 256,66 Ab  | 140,00 Bb | 166,25 Ba |
| Iso-14/cac             | 326,66 Ba               | 542,50 Aa  | 262,50 Ca | 221,66 Ca |
| Iso-09/cac             | 215,83 Bb               | 484,16 Aa  | 169,16 Bb | 212,91 Ba |
| Iso-03/cac             | 303,33 Ba               | 460,83 Aa  | 274,16 Ba | 192,50 Ca |
| Iso-43/sl              | 367,50 Ba               | 519,16 Aa  | 285,83 Ca | 250,83 Ca |
| Iso-28/cac             | 210,00 Bb               | 507,50 Aa  | 169,16 Bb | 166,25 Ba |
| Iso-53/sl              | 221,66 Bb               | 326,66 Ab  | 180,83 Bb | 204,16 Ba |

<sup>1/</sup> Área abaixo da curva de progresso da doença.

<sup>2/</sup> Cac= Cáceres/MT, sl= Sete Lagoas/MG.

<sup>3/</sup> Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na HORIZONTAL e minúscula na VERTICAL constituem grupo estatisticamente homogêneo pelo método de Scott-Knott.

Quanto aos genótipos de sorgo sacarino, o BRS 506 não apresentou diferença na AACPD entre os isolados, formando apenas um grupo de médias. E para o genótipo BRS 511 a maioria dos isolados apresentaram-se no mesmo grupo com menor agressividade, exceto os isolados Iso-14/cac, Iso-03/cac e Iso-43/sl que foram os isolados com maior agressividade para o genótipo BRS 511.

No que se refere à porcentagem de área foliar doente (%AFD) (Tabela 9), os genótipos não apresentaram diferença em relação aos isolados Iso-50/sl, Iso-34/sl e Iso-35/sl. Para os demais isolados, os genótipos BRS 716, BRS 511 e BRS 506 formaram um grupo de médias e o genótipo Agri 002-E apresentou a maior %AFD em relação aos demais genótipos confirmando, assim, a suscetibilidade deste genótipo à antracnose.

Tabela 9. Porcentagem de área foliar doente (%AFD) em genótipos de sorgo biomassa BRS 716, Agri 002-E e genótipos de sorgo sacarino BRS 511 e BRS 506, inoculados com dez isolados de *Colletotrichum sublineolum*, Cáceres-MT, 2017

| ISOLADOS <sup>2/</sup> | % AFD <sup>1/</sup>   |            |         |         |
|------------------------|-----------------------|------------|---------|---------|
|                        | BRS 716               | Agri 002-E | BRS 511 | BRS 506 |
| Iso-01/cac             | 0,26 Ba <sup>3/</sup> | 8,83 Ab    | 0,58 Ba | 1,36 Ba |
| Iso-50/sl              | 0,27 Aa               | 1,40 Ac    | 1,26 Aa | 0,28 Aa |
| Iso-34/sl              | 0,39 Aa               | 3,82 Ac    | 0,39 Aa | 1,91 Aa |
| Iso-35/sl              | 0,85 Aa               | 2,58 Ac    | 1,20 Aa | 0,56 Aa |
| Iso-14/cac             | 0,94 Ba               | 10,57 Ab   | 1,04 Ba | 2,97 Ba |
| Iso-09/cac             | 0,74 Ba               | 6,61 Ab    | 0,81 Ba | 0,49 Ba |
| Iso-03/cac             | 0,83 Ba               | 19,02 Aa   | 0,43 Ba | 0,87 Ba |
| Iso-43/sl              | 1,03 Ba               | 4,67 Ac    | 1,12 Ba | 0,80 Ba |
| Iso-28/cac             | 1,03 Ba               | 4,67 Ab    | 1,12 Ba | 0,80 Ba |
| Iso-53/sl              | 0,29 Ba               | 5,44 Ac    | 1,02 Ba | 0,87 Ba |

<sup>1/</sup> Porcentagem de área foliar doente.

<sup>2/</sup> Cac= Cáceres/MT, sl= Sete Lagoas/MG.

<sup>3/</sup> Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na HORIZONTAL e minúscula na VERTICAL constituem grupo estatisticamente homogêneo pelo método de Scott-Knott.

Pode-se observar que a menor AACEAL e a menor severidade da doença foram observadas nos genótipos BRS 716, BRS 511 e BRS 506, o que refletiu também na porcentagem de área foliar doente final. Este fato demonstra um potencial da utilização destes genótipos como medida de manejo da antracnose em áreas com histórico da ocorrência da doença, uma vez que, a principal e mais eficiente

medida para o controle desta doença é o uso de cultivares resistente (Cota et al., 2010).

Em relação ao comportamento dos isolados dentro de cada genótipo, não houve diferença entre os genótipos BRS 716, BRS 511, BRS 506, todos apresentaram uma baixa %AFD.

O genótipo Agri 002-E obteve as maiores %AFD, ocorrendo a formação de três grupos de média, no qual, os isolados provenientes de Cáceres (Iso-01/cac, Iso-14/cac, Iso-09/cac, Iso-03/cac e Iso-28/cac) apresentaram maior agressividade, diferindo dos isolados de Sete Lagoas. Pode-se observar que a agressividade dos isolados é ressaltada no genótipo Agri 002-E, que é o genótipo mais suscetível entre os estudados. Isso ocorre devido a maior sensibilidade do genótipo a ocorrência do patógeno. Deste modo, para avaliar a agressividade dos patógenos, genótipos mais suscetíveis podem ser mais indicados, uma vez que, a identificação da variabilidade presente nos patógenos são mais eficientes.

Na Figura 8, verifica-se a agressividade dos isolados de *C. sublineolum* no genótipo de sorgo biomassa Agri 002 – E. Além disso, observa-se também a suscetibilidade apresentada pelo genótipo Agri 002 – E. Devido a essa suscetibilidade, não é indicado a sua utilização em locais com histórico de antracnose, além disso, também não é indicado o cultivo em locais cuja condição climática propicie o desenvolvimento da doença, tais como: longos períodos de molhamento foliar, alta umidade relativa e temperaturas moderadas (Casela et al., 1994; Costa et al., 2013), pois, a utilização de cultivares suscetíveis, em condições desfavoráveis a ocorrência da doença faz com que a severidade seja menor (Silva, 2012).

Com base nos resultados de AACEAL, AACPD e %AFD pode-se afirmar que além de variabilidade genética, os isolados de *C. sublineolum* também apresentaram variabilidade patogênica. Estes resultados confirmam estudos anteriores realizados por Casela et al., (1996) e Harris e Jonhson (1967) que afirmam que a patogenicidade de *C. sublineolum* é altamente variável dentro de uma população de isolados e mudanças na virulência de populações de *C. sublineolum* já foram constatadas em diversos locais.



Figura 8. Folhas com lesão típica de Antracnose causada por *Colletotrichum sublineolum* em sorgo biomassa (genótipo Agri 002 – E), Cáceres-MT, 2017.

#### 4.6 Correlação Simples

Na tabela 10, são apresentadas as correlações entre as variáveis analisadas. A magnitude das correlações entre as características variaram de -0.24 á 0.81 (PI X AACPD e AACEAL X %AFD, respectivamente).

Tabela 10. Correlação simples entre quatro variáveis avaliadas sobre dez isolados de *Colletotrichum sublineolum* em diferentes genótipos de sorgo Biomassa BRS 716, Agri 002-E e genótipos de sorgo sacarino BRS 511 e BRS 506, Cáceres-MT, 2017

| Variáveis <sup>1/</sup> | AACPD   | AACEAL   | %AFD     |
|-------------------------|---------|----------|----------|
| PI                      | -0,2415 | -0,1846  | -0,0956  |
| AACPD                   |         | 0,6508** | 0,7678** |
| AACEAL                  |         |          | 0,8156** |

<sup>1/</sup> PI = Período de incubação; AACEAL = área abaixo da curva de expansão da área da lesão; AACPD = área abaixo da curva de progresso da doença; %AFD = porcentagem de área foliar doente.

\*\* Significativo a 1% de probabilidade pelo teste t.

Para estabelecer a magnitude das correlações entre as variáveis foi utilizada a classificação proposta por Shimakura e Ribeiro Junior (2012), onde a classificação de intensidade da correlação é considerada como muito forte (0.90 a 1.00), forte (0.70 a 0.89), moderada (0.40 a 0.69), fraca (0.20 a 0,39) e bem fraca (0.00 a 0.19).

A análise de correlação mostra que a AACPD obteve correlação moderada positiva de valor significativo com AACEAL e forte com %AFD, indicando influência desses caracteres em relação à AACPD.

Verifica-se correlação positiva e forte entre AACEAL e %AFD, sugerindo que quanto maior a área foliar doente maior será a porcentagem de área foliar doente. Coêlho et al., (2001), avaliando severidade de *C. graminicola* também observou correlação positiva e forte entre as variáveis de crescimento da lesão e área lesionada. Em estudo realizado, Pereira (2005), avaliando a reação de acessos de *Capsicum* spp. à *Colletotrichum* sp. também verificou-se correlação positiva entre as variáveis de crescimento da lesão.

Para período de incubação, a correlação entre as variáveis foram negativas e fracas (PI X AACPD) a bem fracas (PI X AACEAL e PI X %AFD). Resultados similares foram observados por Sussel (2005), que também não encontrou correção entre período de incubação e crescimento da lesão em isolados de *Colletotrichum ligearium*. Segundo Montardo et al., (2003), a ocorrência da baixa correlação entre variáveis ocorre devido à pouca variabilidade em uma das características, visto que, essa análise busca constatar uma eventual relação na variação das características estudadas.

## 5. CONCLUSÕES

Os isolados de *C. sublineolum* apresentaram variabilidade genética e os métodos de agrupamentos utilizados demonstraram que os isolados de *C. sublineolum* têm uma tendência a se organizar de acordo com sua procedência.

Há diferença na agressividade dos isolados de *C. sublineolum* obtidos por meio dos diferentes genótipos de sorgo, com destaque para os de Cáceres que são mais agressivos.

O genótipo de sorgo biomassa Agri 002-E apresenta maior intensidade da doença e suscetibilidade em relação aos isolados de *C.sublineolum*.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADUGNA, A. Alternate approaches in deploying for disease resistance in crop plants. **Asian Journal of Plants Sciences**, 3:618-623, 2004.
- ANDRADE, E. M.; UESUGI, C. H.; UENO, B.; FERREIRA, M. A. S. V.; Caracterização morfo-cultural e molecular de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* patogênicos ao mamoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, 32:021-031, 2007.
- ARX, J. A. V. Die Arten der Gattung *Colletotrichum* Cda. **Phytopathologische Zeitschrift**, 29:413-468, 1957.
- BATISTA, V. A. P. **Avaliação bioenergética de sorgos biomassa, sacarino e forrageiro**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2016. 81p. (Dissertação – Mestrado em Fitotecnia).
- BENNETT, W. F.; TUCKER, B. B.; MAUNDER, A. B. **Modern grain sorghum production**. First Edition. Iowa: Iowa State University, 1990. 63-81p.
- BENITEZ, L. C.; RODRIGUES, I. C. S.; ARGE, L. W. P.; RIBEIRO, M. V.; BRAGA, E. J. B. Análise multivariada da divergência genética de genótipos de arroz sob estresse salino durante a fase vegetativa. **Revista Ciência Agronômica**. 2:409-416, 2011.
- BERGAMIN-FILHO, A.; AMORIM, L. **Doenças de plantas tropicais: Epidemiologia e Controle econômico**. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, 1996. 289p.
- BERTRAN, I.; CARVALHO, F. I. F.; OLIVEIRA, A. C.; VIEIRA, E. A.; HARTWIG, I.; SILVA, J. A. G.; SHIMIDT, D. A. M.; VALÉRIO, I. P.; BUSATO, C. C.; RIBEIRO, G. Comparação de métodos de agrupamento na representação da distância morfológica entre genótipos de trigo. **Revista Brasileira Agrociência**, 12:279-286, 2006.
- BERGSTROM, G. C.; NICHOLSON, R. L. The biology of corn anthracnose: knowledge to exploit for improved management. **Plant Disease**. 83:596-607, 1999.
- BOTSTEIN, D.; WHITE, R. L.; SKOLMICK, H. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. **American Journal of Human Genetics**. 32:314-331, 1980.
- BOZA, E. J.; IRISH, B. M.; MEEROW, A. W.; TONDO, C. L.; RODRIGUEZ, O. A.; VENTURA-LÓPEZ, M.; GOMEZ, J. A.; MOORE, J. M.; ZHANG, D.; MOTAMAYOR,

- J. C.; SCHNELL, R. J. Genetic diversity, conservation, and utilization of *Theobroma cacao* L.: genetic resources in the Dominican Republic. **Genetic Resources and Crop Evolution**. 60:605-619, 2013.
- BUIATE, E. A. S. **Avaliação da resistência de genótipos de sorgo ao agente causal da antracnose**. Lavras: UFLA, 2009. 67p. (Dissertação – Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).
- CARDWEL, K. F.; HEPPELY, P. R.; FREDERIKSEN, R. A. Pathotypes of *Colletotrichum graminicola* and seed transmission of sorghum anthracnose. **Plant Disease**. 73:255-257, 1989.
- CASELA, C. R.; FERREIRA, A. S.; SCHAFFERT, R. E. Sorghum diseases In Brazil. In: DE MILIANO, W. A. J.; FREDERIKSEN, R. A.; BENGSTON, G. D. **Sorghum and millets diseases: a second world review**. India: ICRISAT, 1992. p.57-62.
- CASELA, C. R.; FREDERIKSEN, R. A. Survival of *Colletotrichum graminicola* sclerotia in sorghum stalk residue. **Plant Disease**. 77:825-827, 1993.
- CASELA, C. R.; FREDERIKSEN, R. A. Pathogenic variability in monoconidial isolates of the sorghum anthracnose fungus *Colletotrichum graminicola* from single lesions and from monoconidial cultures. **Fitopatologia Brasileira**. 19:149-153, 1994.
- CASELA, C. R.; FERREIRA, A. S.; ZELLER, K. A.; LEVY, M. Pathotype variation in the sorghum anthracnose fungus: a phylogenetic perspective for resistance breeding. In: LESLIE, J.F.; FREDERIKSEN, R.A. **Disease analysis through genetics and biotechnology: interdisciplinary bridges to improved sorghum and millets**. Ames: Iowa State University, 1995. p.257-288.
- CASELA, C. R.; FERREIRA, A. S.; BRANÇÃO, N. Variabilidade e estrutura de virulência em *Colletotrichum graminicola* em sorgo. **Fitopatologia Brasileira**. 21:357-361, 1996.
- CASELA, C. R.; PINTO, N. F. J. A.; OLVEIRA, E.; FERREIRA, A. S. Sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench): controle de doenças. In: VALE, F. X. R. do; ZAMBOLIM, L. **Controle de doenças de plantas**. Viçosa: UFV, 1997. p.1025-1064.
- CASELA, C. R.; FERREIRA, A. S. **Antracnose do sorgo (*Colletotrichum graminicola*)**. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 1998. 19p. (Circular Técnica, 28).
- CASELA, C. R.; SANTOS, F. G.; FERREIRA, A. S. Associação de patogenicidade e diversidade fenotípica de *Colletotrichum graminicola* agente causal da antracnose em sorgo. **Fitopatologia Brasileira**. 25:517-521. 2000.

- CASELA, C. R.; FERREIRA, A. S.; SANTOS, F. G. Differences in competitive ability among races of *Colletotrichum graminicola* in mixtures. **Fitopatologia Brasileira**. 26:217-219, 2001.
- CASELA, R. C.; SANTOS, F. G.; FERREIRA, A. S. Race diversity and complexity in populations of the sorghum anthracnose fungus *Colletotrichum graminicola*. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**. 3:30-37, 2004.
- CASELA, R. C. Variabilidade genética de patógenos e resistência de cultivares. In: VIII Seminário Nacional De Milho Safrinha, Assis, SP, 2005. **Anais...** Assis, 2005. p.189-194.
- CARRILLO, M. A.; STAGGENBORG, S. A.; PINEDA, J. A. Washing sorghum biomass with water to improve its quality for combustion. **Fuel**. 116:427–431, 2014.
- CASTRO, F. M. R.; **Potencial Agronômico e Energético de Híbridos de Sorgo Biomassa**. Lavras: UFLA, 2014. 80p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia).
- CAIXETA, E. T.; OLIVEIRA, A. C. B.; BRITO, G. G.; SAKIYAMA, N. S. Tipos de marcadores moleculares. In: BORÉM, A.; CAIXETA, E. T. **Marcadores moleculares**. 2.ed. Viçosa: UFV, 2009. p.11-94.
- COÊLHO, R. M. S.; SILVA, H. P.; BRUNELLI, K. R.; CAMARGO, L. E. A. Controle monogênico da antracnose foliar em milho. **Fitopatologia Brasileira**. 26:640-643, 2001.
- CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Estimativa da produção de grãos no Brasil**. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 10, outubro, 2017.
- COSTA, R. V.; CASELA, C. R.; ZAMBOLIM, L.; FERREIRA, A. S. A antracnose do sorgo. **Fitopatologia brasileira**. 28:345-354, 2003.
- COSTA, R. V. DA; SILVA, D. D.; COTA, L. V. **Antracnose Foliar do Sorgo**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2013. 18p. (Embrapa Milho e Sorgo - Circular técnica, 196).
- COTA, L. V.; COSTA, R. V. DA; CASELA, C. R. In: RODRIGUES, J. A. S. **Cultivo do sorgo**. 6. ed. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2010. (Embrapa Milho e Sorgo - Sistema de Produção, 2).
- CHAKY, J.; ANDERSON, K.; MOSS, M.; VAILLANCOURT, L. Surface hydrophobicity and surface rigidity induce spore germination in *Colletotrichum graminicola*. **Phytopathology**, 91:558-564, 2001.

CRUTE, I. R.; PINK, D. A. Genetics and utilization of pathogen resistance in plants. **The Plant Cell**, 8:1747-1755, 1996.

CROUCH, J. A.; CLARCK, B. B.; HILMAN, B. I. Unraveling Evolutionary Relationships Among the Divergent Lineages of *Colletotrichum* Causing Anthracnose Disease in Turfgrass and Corn. **Phytopathology**, 96:46-60, 2006.

CRUZ, C. D. **Programa genes**: versão Windows: aplicativo computacional em genética e estatística. Software. Viçosa: UFV, 2016.

CRUZ C. D.; REGAZZI A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 2001. 390p.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 2003. 585p.

DAMASCENO, C. M. B.; SOUSA, S. M. de; NODA, R. W.; PARRELLA, R. A. da C.; SCHAFFERT, R. E.; MAGALHAES, J. V. de. A importância da lignina para a produção de etanol de segunda geração. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2010. 35 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Documentos, 108).

DURÃES, F. O. M. Sorgo sacarino: desenvolvimento de tecnologia agrônômica. **Revista Agroenergia**. 3 edição, 2011.

DURÃES, F. O. M.; MAY, A.; PARRELLA, R. A. C. **Sistema Agroindustrial do Sorgo Sacarino no Brasil e a Participação Público-Privada: Oportunidades, Perspectivas e Desafios**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2012. 76p. (Documentos 138).

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Food Outlook. BIENNIAL REPORT ON GLOBAL FOOD MARKETS**. June, 2017.

FERREIRA, A. S.; CASELA, C. R. Raças Patogênicas de *Colletotrichum graminicola*, Agente Causal da Antracnose Em Sorgo. **Fitopatologia Brasileira**, 11:83-87, 1986.

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

FREDERIKSEN, R.A., ROSENOW, D.T. Diseases resistance in sorghum. In: ANNUAL CORN AND SORGHUM RESEARCH CONFERENCE, Washington, 1971. **Proceedings...** American Seed Trade Association, 1971. p.71-82.

FREDERIKSEN, R. A. **Compendium of Sorghum diseases**. 2 edição. American Phytopathological Society, 2000. 78p.

FREEMAN, S., KATAN, T.; SABHI, E. Characterization of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose diseases of various fruits. **Plant Disease**. 82:596-605, 1998.

GUIMARÃES, E. B.; CASELA, C. R.; VALE, F. X. R.; ZAMBOLIM, L.; SANTOS, F.G. DOS. Resistência dilatória de genótipos de sorgo a diferentes raças de *Colletotrichum graminicola*. **Summa Phytopathologica**. 24:136-140, 1998.

GUIMARÃES, F. B.; CASELA, C. R.; SANTOS, F. G.; PEREIRA, J. C. R.; FERREIRA, A. S. Avaliação da resistência de genótipos de sorgo à antracnose. **Summa Phytopathologica**. 25:308-312, 1999.

GUEDES, V. L. A.; COTA, L. V.; SILVA, D. D.; COSTA, R. V. Resistência de genótipos de sorgo a mancha foliar causada por *Ramulispora sorghi*. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, Sete Lagoas, 2013. **Anais...** Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2013.

HARRIS, H. B.; JONHSON, R. Sorghum anthracnose symptoms, importance and resistance. In: BIEN GRAIN SORGHUM RESEARCH AND UTILITY CONFERENCE, Lubbock, 1967. **Proceedings...** Lubbock: Grain Sorghum Producers Association, 1967. p.48-52.

HARRIS, H. B.; SOWELL, G. J. Incidence of *Colletotrichum graminicola* on *Sorghum bicolor* introductions. **Plant Disease Reporter**. 54:60-62, 1970.

HYDE, K. D.; CAI, L.; CANNON, P. F.; CROUCH, J. A.; CROUS, P. W.; DAMM, U.; GOODWIN, P. H.; CHEN, H.; JOHNSTON, P. R.; JONES, E. B. G.; LIU, Z. Y.; MCKENZIE, E. H. C.; MORIWAKI, J.; NOIREUNG, P.; PENNYCOOK, S. R.; PFENNING, L. H.; PRIHASTUTI, H.; SATO, T.; SHIVAS, R. G.; TAN, Y. P.; TAYLOR, P. W. J.; WEIR, B. S.; YANG, Y. L.; ZHANG, J. Z. *Colletotrichum* – names in current use. **Fungal Diversity**. 39:147-182, 2009.

LIU K.; MUSE S. **Power Marker**: Integrated analysis environment for genetic marker data. *Bioinformatics* 21:2128-2129, 2005.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M.; SCHAFFERT, R. E. **Fisiologia da planta do sorgo**. Sete Lagoas, 2000. 46p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 3).

MAY, A.; SILVA, D. D. DA.; SANTOS, F. C. DOS. Cultivo do Sorgo Biomassa para a Cogeração de Energia Elétrica. Sete Lagoas-MG, 2013. 69p. (Embrapa Milho e Sorgo, Documentos 152).

- MATHUR, K.; THAKUR, R. P.; NEYA, A.; MARLEY, P. S.; CASELA, C. R.; ROSEWICH, L. U. *Sorghum* anthracnose – Problem and Management Strategies. In: J. Leslie, (ed.) **Sorghum and Millets Pathology**. Iowa: State University Press, 2000. p.211-220.
- MONTARDO, D. P.; AGNOL, M. D.; CRUSIUS, A. F.; PAIM, N. R. Análise de trilha para rendimento de sementes de trevo vermelho (*Trifolium pratense* L.). **Revista Brasileira de Zootecnia**. 32:1076-1082, 2003.
- NAKAMURA, K. **Especialização fisiológica em *Colletotrichum graminicola***. (CES). (Wils) senso (Arx.). Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, 1982. 147p. (Tese - Livre Docência em Fitopatologia).
- NGUYEN, P. T. H.; PETTERSSON, O. V.; OLSSON, P.; LILJEROTH, E. Identification of *Colletotrichum* species associated with anthracnose disease of coffee in Vietnam. **European Journal of Plant Pathology**. 127:73-87, 2010.
- NICHOLSON, R.L. *Colletotrichum graminicola* and the anthracnose diseases of maize and sorghum. In: BAILEY, J. A.; JEGER, M. J. **Colletotrichum: biology, pathology, and control**. Wallingford: CAB International, 1992. p.186- 202.
- OLIVEIRA, F. T.; TARDIN, F. D.; SILVA, R. S.; BARELLI, M. A. A. Sorgo Sacarino: uma perspectiva sustentável na produção de combustível. **Revista do ceds**. 1, 2016.
- PANIZZI, R. C.; FERNANDES, N. G. Doenças do sorgo. In: Camargo, E. A., Rezende, J. A. M. (Eds.). **Manual de Fitopatologia - Doenças das Plantas Cultivadas**. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 1997. p.676-689.
- PARRELLA, R. A. C. **Desenvolvimento de híbridos de sorgo sensíveis ao fotoperíodo visando alta produtividade de biomassa**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2010. 25 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 28).
- PARRELLA, R. A. C.; SCHAFFERT, R. E.; MAY, A.; EMYGDIO, B.; PORTUGAL, A. F.; DAMASCENO, C. M. B. **Desempenho agrônomo de híbridos de sorgo biomassa**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo. 2011. 19p. (Embrapa Milho e Sorgo. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 41).
- PARRELLA, R. A. C. Sorgo sacarino: Melhoramento genético do sorgo sacarino. **Revista Agroenergia**. 2:8-9. 2011.
- PARREIRA, D. F.; ZAMBOLIM, L.; GOMES, E. A.; COSTA, R. V.; SILVA, D. D.; COTA, L. V.; LANA, U. G. P.; SILVA, E. C. F. Estimativa da Diversidade Genética de

*Colletotrichum graminicola* com Marcadores ISSR. In: XXVIII CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO. Goiânia, 2010. **Anais...** Goiânia: Associação Brasileira de Milho e Sorgo. 2010. p.731-739.

PARREIRA, D. F.; ZAMBOLIM, L.; GOMES, E. A.; COSTA, R. V.; SILVA, D. D.; LANA, U. G. P.; NEVES, W. S.; FIGUEIREDO, J. E. F.; COTA, L. V. Diversidade genética estimada através de marcadores issr de *Colletotrichum graminicola* no brasil. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**. 15:186-194, 2016.

PERUMAL, R.; NINMKAYALA, P.; ERATTAMUTHU, S.R.; NO, E.G.; REDDY, U.K.; PROM, L.K.; ODVODY, G.N.; LUSTER, D.G.; MAGILL, C.W. Simple sequence repeat markers useful for sorghum downy mildew (*Peronosclerospora sorghi*) and related species. **BMC Genetics**, 9:77, 2008.

PEREIRA, M. J. Z. **Reação de acessos de *Capsicum* spp. a *Colletotrichum* sp., agente causal da antracnose das solanáceas**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2005. 74p. (Dissertação – Mestrado em Agronomia).

PEREIRA, I. S. **Resistência dilatória do sorgo (*Sorghum bicolor*) à antracnose (*Colletotrichum sublineolum*)**. Lavras: UFLA, 2009. 108p. (Tese – Doutorado em Fitopatologia).

PEREIRA, G. A.; PARRELLA, R. A. C.; PARRELLA, N.N.L.D.; SOUSA, V. F.; SCHAFFERT, R. E.; COSTA, R. K. Desempenho Agronômico de Híbridos de Sorgo Biomassa. In: XXIX CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO. Águas de Lindóia, 2012. **Anais...** São Paulo: Águas de Lindóia, 2012. p.82-88.

PIMENTA, A. A. **Caracterização morfológica, patogênica e genética de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causal da antracnose em manga** (*Mangifera indica* L.). Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista Dissertação, 2009. 91p. (Dissertação – Mestrado em Agronomia).

PHOULIVONG, S.; CAI, L.; CHEN, H.; MCKENZIE E. H. C.; ABDELSALAM, K.; CHUKEATIROTE, E.; HYDE, K. D. *Colletotrichum gloeosporioides* is not a common pathogen on tropical fruits. **Fungal Diversity**. 44:33-43, 2010.

PEAKALL, R.; SMOUSE P. E. GenAIEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. **Bioinformatics**. 28: 2537-2539, 2012.

PRITCHARD, J.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**. 155:945–959, 2000.

- RIBAS, P. M. **Sistema de produção: cultivo de sorgo**. 2000. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Sorgo/CultivodoSorgo>. Acesso em: 10, novembro, 2017.
- RIBAS, P.M. **Sorgo: Introdução e importância econômica**. Sete Lagoas, 2003. 14p. (Embrapa Milho e Sorgo. Documentos, 26).
- RIBAS, P. M. **Sorgo: introdução e importância econômica**. Embrapa Milho e Sorgo. Sete Lagoas, MG, 2009.
- RIBAS, P. M. Origem e importância econômica. In: BORÉM, A.; PIMENTEL, L.; PARRELLA, R.; **Sorgo: do plantio à colheita**. Viçosa: Editora UFV, 2014, 275p.
- ROHLF, F. J. Adaptive hierarchical clustering schemes. **Systematic Zoology**. 19:58-82, 1970.
- RODRIGUES, J. A. S. **Cultivo do sorgo**. 2015. Disponível em: <[https://www.spo.cnptia.embrapa.br/conteudo?p\\_p\\_id=conteudoportlet\\_WAR\\_sistemasdeproducaolf6\\_1ga1ceportlet&p\\_p\\_lifecycle=0&p\\_p\\_state=normal&p\\_p\\_mode=view&p\\_p\\_col\\_id=column1&p\\_p\\_col\\_count=1&p\\_r\\_p\\_76293187\\_sistemaProducaold=8301&p\\_r\\_p\\_-996514994\\_topicold=9213](https://www.spo.cnptia.embrapa.br/conteudo?p_p_id=conteudoportlet_WAR_sistemasdeproducaolf6_1ga1ceportlet&p_p_lifecycle=0&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=column1&p_p_col_count=1&p_r_p_76293187_sistemaProducaold=8301&p_r_p_-996514994_topicold=9213)>. Acesso em: 09, nov, 2017.
- RODRIGUES, J. A. S.; SANTOS, F. G. **Sistema de produção do sorgo**. 2011. Disponível em: <[http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/sorgo\\_7\\_ed/index.htm](http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/sorgo_7_ed/index.htm)> Acesso em: 8 out 2017.
- ROSEWICH, U. L.; PETTWAY, R. E.; MCDONALT, B. A.; DUNCAN, R. R.; FREDERIKSEN, R. A. Genetic structure and temporal dynamics of a *Colletotrichum graminicola* population in a *sorghum* disease nursery. **Phytopathology**. 88:1087-1093, 1998.
- ROSSI, F. S.; ROSSI, A. A. B.; DARDENGO, J. F. E.; BRAUWERS, L. R.; DA SILVA, M. L. DA.; SEBBENN, A. M. Diversidade genética em populações naturais de *Mauritia flexuosa* L. f. (Arecaceae) com uso de marcadores ISSR. **Scientia Florestalis**. 42:631-639, 2014.
- SANTOS, F. G., CASELA, C. R., WAQUIL, J. M. Melhoramento de Sorgo. In: BORÉM, A.(org). **Melhoramento de Espécies Cultivadas**. Viçosa: UFV, 2005. p. 429-466.
- SANTOS, P. C. M.; LIMA, W. G.; BEZERRA, C. S.; MICHEREFF, S. J.; CÂMARA, M. P. S. Diversidade genotípica e patogênica de *Colletotrichum musae* no estado de pernambuco. **Revista Brasileira de Fruticultura**. 37:355-366, 2015.

- SAIDUR, R.; ABDELAZIZ, E. A.; DEMIRBAS, A.; HOSSAIN, M. S.; MEKHILEF, S. A review on biomasses a fuel for boilers. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. 15:2262–2289, 2011.
- SHARMA, H.L. A technique for identifying and rating resistance to foliaaar diseases of *sorghum* under field conditions. **Proceeding Indian Academy Science**. 42:278-283, 1983.
- SHANER, G.; FINNEY, R.E. The effect of nitrogen fertilization on the expressin of slow-mildewing resistance in knox wheat. **Phytopathology**. 67:1051-1056, 1977.
- SILVA, D. D. DA. **Resistência de híbridos de sorgo a *Colletotrichum sublineolum*: previsibilidade por meio da reação de linhagens progenitoras**. Lavras : UFLA, 2006. 124 p. (Dissertação – Mestrado em Fitopatologia).
- SILVA, D. D. DA.; CASELA, C. R.; CASTRO, H. A. DE.; SANTOS, F. G. DOS.; FERREIRA, A. S. Diversidade populacional de *Colletotrichum sublineolum* em seis localidades no Brasil. **Summa Phytopathologica**. 34:149-155, 2008.
- SILVA, D. D. DA. **Resistência de híbridos de sorgo e diversidade de *Colletotrichum sublineolum***. Lavras: UFLA, 2009. 175 p. (Tese – Doutorado em Fitopatologia).
- SILVA, D. D. DA.; COSTA, R. V.; COTA, L. V.; CASELA, C. R.; SILVA, E. C. F. DA.; PARREIRA, D. F.; FERREIRA, P.; NOLASCO, A. A. R.; ARAÚJO, B. H.; LANZA, F. B. Rotação de cultivares para o manejo da antracnose do sorgo. In: XXVIII CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, Goiânia, 2010. **Anais...** Goiânia, 2010. p.828-834.
- SILVA, D. D. DA. Recomendação de Cultivares de Sorgo Forrageiro para Resistência à Antracnose Foliar. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2012. 6p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular técnica, 176).
- SILVA, R. A.; PARRELLA, R. A. C.; SOUZA, V. F.; SANTOS, C. V.; RIBEIRO, P. C. O.; SILVA, M. J.; BERNARDINO, K. C.; SCHAFFERT, R. E.; RABELO, M. M.; OLIVEIRA, M. S. Avaliação do desempenho agrônômico de híbridos experimentais de sorgo biomassa. In: 9º CONGRESSO INTERNACIONAL DE BIOENERGIA. São Paulo/SP, 2014. **Anais...** São Paulo, 2014.
- SILVEIRA, A. L. **Caracterização molecular de *Colletotrichum acutatum* e *C. gloeosporioides* associados a citros, por marcadores ISSR**. Jaboticabal:

Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2015. 52p. (Dissertação - Mestrado em Agronomia).

SHERRIFF, C.; WHELAN, M.J.; ARNOLD, G.M.; BAILEY, J.A. Rdna sequence analyses confirms the distinction between *Colletotrichum graminicola* and *C. sublineolum*. **Mycological Research**. 99:475-478, 1995.

SHIMAKURA, S. E.; RIBEIRO JÚNIOR, P. J. **Estatística Descritiva: interpretação do coeficiente de correlação**. Departamento e Estatística da UFPR. Disponível em: <<http://leg.ufpr.br/~paulojus/CE003/ce003/ce003.html>>. Acesso em: 20 de outubro de 2017.

SUSSEL, A. A. B. Caracterização de isolados de *Colletotrichum lagenarium*, agente causal da antracnose das cucurbitáceas. Piracicaba: Universidade de São Paulo, 2005. 68p. (Dissertação – Mestrado em Agronomia).

SUTTON, B.C. The apressoria of *Colletotrichum graminicola* e *Colletotrichum falcatum*. **Canadian Journal Botany**. 46:873-876, 1968.

SUTTON, B. C. The Coleomycetes. **CABI Publishing**. p696, 1980.

SUTTON, B. C. The Genus Glomerella and it's anamorph *Colletotrichum*. In: Bailey, J.A., Jeger, M.J. (Eds.) *Colletotrichum: biology, pathology and control*. p.1-26. 1992.

SUSSEL, A. A. B. **Caracterização de isolados de *Colletotrichum lagenarium*, agente causal da antracnose das cucurbitáceas**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. 2005. 68p. (Dissertação – Mestrado em Agronomia).

TABOSA, J. N.; TAVARES-FILHO, J. J.; BRITO, A. R. M. B.; NASCIMENTO, M. M. A.; REIS, O. V. R.; SIMPLÍCIO, J. B.; SANTOS, R. S. M.; DIAS, F. M.; TAVARES, J. A.; BRITO, P. R.; LIMA, L. E.; SOUZA, O. P. **O cultivo do sorgo no semiárido de Pernambuco - aspectos gerais e recomendações básicas de plantio**. 2008. Disponível em: < <http://www.ipa.br/resp58.php>>. Acesso em: 20, outubro de 2017.

THAKUR, R.; MATHUR, K. Anthracnose. In: FREDERIKSEN, R. A.; ODVODY, G. **Compendium of sorghum diseases**. 2. ed. Saint Paul: American Phytopathological Society, 2000. p.10-12.

TEIXEIRA, C. G.; JARDINE, J.G.; NICOLELLA, G.; ZARONI, M.H. Influência da época de corte sobre o teor de açúcares de colmos de sorgo sacarino. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. 34:1601-06, 1999.

- TEIXEIRA, C. G.; JARDINE J. G.; BEISMAN, D. A. Utilização do sorgo sacarino como matéria-prima complementar à cana-de-açúcar para obtenção de etanol em microdestilaria. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.17. 1997.
- VALÉRIO, H. M.; RESENDE, M. A.; CASELA, C. R.; WEIKERT-OLIVEIRA, R. C. B.; CALIGIORNE, R. B. Variabilidade genética entre populações de *Colletotrichum graminicola* através de marcadores gerados por RAPD e RFLP. In: XXIII CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO. Uberlandia/MG, 2000. **Anais...** Uberlandia, 2000.
- VALÉRIO, H. M.; RESENDE, M. A.; WEIKERT-OLIVEIRA, R. C. B.; CASELA, C. R. Virulence and molecular diversity in *Colletotrichum graminicola* from Brazil. **Mycopathologia**. 159:449-459, 2005.
- VANDERPLANK, J.E. **Disease resistance in plants**. London: Academic, 1968. 206p.
- VON PINHO, R. G.; VASCONCELOS, R. C. **Cultura do sorgo**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2002. 76 p.
- WARREN, H. L. Leaf anthracnose. In: FREDERIKSEN, R.A. **Compendium of Sorghum Diseases**. Saint Paul: American Phytopathological Society, 1986. p.10-11.
- ZIETKIEWICZ, E.; RAFALSKI, A.; LABUDA, D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. **Genomics**. 20:176-183, 1994.