

Componentes de Resistência em Cebola a *Colletotrichum gloeosporioides**

Raquel A. Pedrosa¹, Luiz A. Maffia¹, Eduardo S. G. Mizubuti¹ & Sérgio H. Brommonschenkel¹

¹Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, CEP 36570-000, Viçosa, MG, e-mail: lamaffia@ufv.br

(Aceito para publicação em 27/07/2004)

Autor para correspondência: Luiz A. Maffia

PEDROSA, R.A., MAFFIA, L.A., MIZUBUTI, E.S.G. & BROMMONSCHENKEL, S.H. Componentes de resistência em cebola a *Colletotrichum gloeosporioides*. Fitopatologia Brasileira 29:606-613. 2004.

RESUMO

A antracnose foliar causada por *Colletotrichum gloeosporioides* é importante nas regiões cebolicultoras da América Latina, África e Ásia, mas há poucos estudos relacionados à resistência ao patógeno. Assim, neste trabalho, conduzido em condições de casa de vegetação, avaliaram-se componentes de resistência de oito cultivares e dois acessos de cebola (*Allium cepa*) a quatro isolados do patógeno, inoculados por atomização de suspensão de inóculo ou deposição de discos de micélio em folhas. Detectaram-se diferenças significativas entre cultivares/acessos, na inoculação por atomização, quanto à frequência de infecção inicial e à taxa de progresso monocíclico da doença (r_g) e, na inoculação com disco de micélio, quanto ao período de incubação e área da lesão. Determinaram-se os coeficientes de correlação (r) dos componentes de resistência estimados na inoculação por atomização. Os valores de r foram 0,98

entre severidade estimada visualmente aos nove dias da inoculação (SEV9) e área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD); 0,80 entre SEV9 e severidade estimada por medidor de área foliar (SEV); 0,72 entre SEV9 e r_g ; 0,64 entre SEV9 e frequência de infecção aos nove dias da inoculação; 0,81 entre SEV e AACPD e 0,64 entre SEV e r_g . Em vista dos valores significativos de r associados a SEV9 e da não necessidade de escala para estimar esse componente, SEV9 é potencialmente útil na avaliação de germoplasma de cebola frente a *C. gloeosporioides*. Na inoculação por atomização, mais rápida e simples de execução, obtiveram-se maior eficiência de infecção e menor variabilidade de respostas, e deverá ser adotada em estudos futuros.

Palavras-chave adicionais: *Allium cepa*, antracnose foliar, epidemiologia.

ABSTRACT

Components of onion resistance to *Colletotrichum gloeosporioides*

Despite the importance of onion (*Allium cepa*) leaf anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides* in Latin America, Africa, and Asia, few studies have focused on host resistance to the pathogen. Therefore, in this study, resistance components of two cultivars and eight accessions of onion to four isolates of *C. gloeosporioides* were evaluated under greenhouse conditions. Inoculations were performed either by spraying inoculum suspension or by placing a mycelial disc on the leaf. The cultivars and accessions differed significantly regarding initial infection frequency and monocyclic progress rate (r_g) with the spray-inoculation, and regarding incubation period and lesion area with the mycelial-disc inoculation. Correlation coefficient (r) values were estimated between the components with the mycelial disk

inoculations. Values of r were 0.98 between disease severity visually assessed nine days after inoculation (SEV9) and area under the disease progress curve (AUDPC), 0.80 between SEV9 and disease severity assessed with the leaf area meter (SEV), 0.72 between SEV9 and r_g , 0.64 between SEV9 and infection frequency nine days after inoculation, 0.81 between SEV and AUDPC, and 0.64 between SEV and r_g . Considering both the significant r values associated with SEV9 and that to estimate SEV9 there is no need of rating diagrams, this component is potentially useful to evaluate onion germplasm against *C. gloeosporioides*. The spray inoculation procedure was faster, simpler, and provided higher infection efficiency and lower variability than the mycelial disk inoculation technique. Therefore, this should be the preferred inoculation procedure when assessing onion germplasm.

INTRODUÇÃO

A antracnose foliar, causada por *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. *in* Penz., é considerada a doença mais importante da cebola (*Allium cepa* L.) nas regiões tropicais produtoras da América Latina, África e Ásia,

* Parte da Dissertação de Mestrado do primeiro autor. Universidade Federal de Viçosa (2001).

pois afeta a cultura desde a fase de canteiro até o armazenamento dos bulbos. Há relatos de perdas na produção de 50 a 100% na Nigéria e no Brasil (Galván *et al.*, 1997; Carneiro, 1998).

Para manejo da doença, preconizam-se medidas de controle químico e cultural. O fungicida benomil foi intensivamente usado por cebolicultores. No entanto, o uso inadequado pode ter contribuído para seleção de populações

resistentes ao produto, como constatado com populações de *C. gloeosporioides* em manga (*Mangifera indica* L.) (Cardoso *et al.*, 1995). Entre outros fungicidas testados, prochloraz (PRO) foi mais eficiente que benomil (BEN) + mancozeb (MAN) no controle da doença, em condições de campo (Maranhão *et al.*, 1997). Maior redução na intensidade da doença ocorreu com tiofanato metílico (TM) + MAN, TM + clorotalonil (CLO), BEN + MAN, MAN, captan, CLO, BEN e PRO, em condições de casa de vegetação (Haddad *et al.*, 2003). Medidas de controle cultural, como o uso de material propagativo sadio, eliminação de restos culturais, rotação de culturas e a semeadura não muito densa, podem reduzir a intensidade da antracnose (Moreira, 2000). Estas medidas, combinadas ao uso de cultivares resistentes, podem aumentar a eficiência de controle da doença e a produção, além de reduzir a poluição ambiental (Boff, 1996; Galván *et al.*, 1997).

No Brasil, em 1973, ocorreu o primeiro relato da resistência à antracnose em cebola (Costa *et al.*, 1974). Mais recentemente, as cultivares IPA-11, IPA-9 e IPA-3 foram as mais resistentes, quando se avaliou a resistência de oito cultivares de cebola a 15 isolados do patógeno (Assunção *et al.*, 1999). Na avaliação de germoplasma silvestre, o acesso 95001 da espécie *Allium roylei* Stearn foi mais resistente a um isolado brasileiro, do que a isolados da Nigéria e da Indonésia (Galván *et al.*, 1997). Porém, no geral, há poucos estudos sobre a resistência de cebola a *C. gloeosporioides*.

A maioria dos cebolicultores da Zona da Mata-MG é constituída por pequenos produtores, para os quais, num contexto de manejo integrado, seria medida importante o plantio de cultivares resistentes. O sucesso de programas de melhoramento visando a obtenção de variedades resistentes depende da identificação segura de padrões de resistência, assim como de procedimentos confiáveis de seleção de materiais genéticos. A quantificação de componentes de resistência *sensu* Parlevliet (1993) é parte integrante desses processos. Por meio destes componentes, é possível economizar tempo e recursos associados à avaliação de germoplasma. Visando obter material resistente, pela avaliação dos componentes de resistência, vêm-se conduzindo estudos com a antracnose em diferentes hospedeiros como em *Stylosanthes*

spp. e morango (*Fragaria x ananassa* Duch.) (Chakraborty *et al.*, 1988; King *et al.*, 1997). Para a antracnose foliar em cebola, não se obtiveram informações sobre a quantificação destes componentes em condições de casa de vegetação e de campo. Assim, este trabalho objetivou avaliar componentes de resistência no patossistema cebola - *C. gloeosporioides* e determinar a resistência em acessos e cultivares de cebola a isolados do patógeno.

MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram conduzidos em casa de vegetação do Departamento de Fitopatologia, da Universidade Federal de Viçosa, de março a novembro de 2000.

Oito cultivares e dois acessos de cebola de diferentes procedências foram utilizados (Tabela 1). A cultivar Texas Early Grano 502 foi utilizada como padrão de suscetibilidade (Assunção *et al.*, 1999).

Utilizaram-se quatro isolados de *C. gloeosporioides*: dois provenientes do município de Guidoal - MG (Cgg10 e Cgg5), um de Guiricema - MG (Tcg1) e um de Vitória de Santo Antão - PE (Iso3). Os isolados foram cultivados em meio de aveia-ágar (farinha de aveia, 60 g; ágar, 12 g; e água, 1.000 ml), a 25 °C, sob luz fluorescente contínua. Após oito dias, de cada isolado, preparou-se suspensão de 10⁵ conídios/ml, acrescentando-se Tween 20 a 0,01%. Com auxílio de um "De Vilbiss nº 5, a suspensão foi atomizada, até o ponto de escorrimento, em plantas de 'Texas Early Grano 502', com 45 dias após o plantio, as quais foram deixadas em câmara de nevoeiro, a 25 °C, sob escuro contínuo. Após 24 h, as plantas foram transferidas para casa de vegetação e, quando se observaram os sintomas típicos de antracnose, o patógeno foi reisolado. Os isolados foram preservados em tubos contendo meio de batata-dextrose-ágar e em frascos contendo água destilada esterilizada.

Aos 40 - 45 dias da semeadura, as mudas dos acessos e cultivares foram transplantadas para vasos plásticos (capacidade 4 kg) e transferidas para casa de vegetação e inoculadas com cada um dos isolados. Dependendo do componente avaliado, utilizou-se um dos dois métodos de inoculação descritos a seguir.

TABELA 1 - Germoplasma de cebola (*Allium cepa*) utilizado nos ensaios

GERMOPLASMA	PROCEDÊNCIA	DADOS DE PASSAPORTE
BGH 6911	UFV	Uruguai, bulbo branco, folhas eretas e cerosas
BGH 6912	UFV	Uruguai, bulbo roxo, folhas eretas e cerosas
Alfa Tropical	EMBRAPA	Brasil, bulbo branco, folhas pouco eretas e pouco cerosas
Baia Dura	AGROCERES	Brasil, bulbo branco, folhas pouco eretas e pouco cerosas
Baia Periforme	AGROCERES	Brasil, bulbo branco, folhas pouco eretas e cerosas
Baia Periforme 36	AGROCERES	Brasil, bulbo branco, folhas pouco eretas e pouco cerosas
Baia Periforme 44	AGROCERES	Brasil, bulbo branco, folhas pouco eretas e pouco cerosas
Encino	ASGROW	Brasil, bulbo branco, folhas pouco eretas e pouco cerosas
Pera IPA-4	IPA	Brasil, bulbo branco, folhas pouco eretas e pouco cerosas
Texas Early Grano 502	AGROFLORA	Brasil, bulbo branco, folhas pouco eretas e pouco cerosas

Atomização (AT)

A metodologia para cultivo do fungo, preparo da suspensão de inóculo e sua posterior atomização em plantas de cebola foi a mesma descrita anteriormente. Depois de inoculadas, as plantas foram mantidas em câmara de nevoeiro, sob condição de escuro contínuo a 25 °C, e após 24 h foram transferidas para casa de vegetação.

Discos de micélio (DM)

Em cada planta de cebola, inocularam-se três folhas, nas quais se depositou de um disco de micélio em crescimento ativo, de 3mm de diâmetro, o qual foi envolvido por fita plástica para auxiliar na aderência do disco à folha inoculada. Após 24 h em câmara de nevoeiro, sob condições de escuro contínuo, a 25°C, as plantas foram transferidas para casa de vegetação. Para quantificar o período de incubação e o período latente e compará-los aos obtidos na inoculação por atomização, modificou-se o método de inoculação por discos, removendo-os após 24 h, com base em testes preliminares realizados em casa de vegetação.

Componentes de Resistência

Avaliaram-se os seguintes componentes de resistência:

Período de incubação - intervalo, em dias, entre a inoculação e o aparecimento dos sintomas. Diariamente, avaliaram-se todas as plantas inoculadas por AT ou por DM, até que 50% das plantas inoculadas apresentassem lesões necróticas (Griffiths & Jones, 1987).

Período latente - intervalo, em dias, entre a inoculação e a produção de esporos. Diariamente, avaliaram-se as lesões foliares nas plantas inoculadas por AT ou DM. Em ambos os tipos de inoculação, efetuaram-se observações macroscópicas, até que 25% das lesões por cultivar apresentassem acérvulos (Griffiths & Jones, 1987).

Frequência de infecção - número de lesões produzidas por unidade de área, a partir de concentração conhecida de inóculo. Na inoculação por AT, aferiu-se o número de lesões produzidas em todas as folhas inoculadas. Efetuaram-se avaliações no dia do surgimento das lesões (FI1) e no nono dia (FI9) do surgimento das mesmas (Carneiro, 1998).

Área de lesão - calculou-se a área de lesão a partir do seu comprimento e largura. Em plantas inoculadas com DM, diariamente, a partir dos primeiros sintomas observados, avaliaram-se as áreas das lesões necróticas com o auxílio de fotografias utilizando câmara digital, até o início do período latente. Com as medidas efetuadas, estimaram-se as área das lesões, com auxílio do programa ImageTool.

Esporulação - número de esporos produzidos por unidade de área de tecido doente. Em plantas inoculadas com DM, adaptou-se a metodologia desenvolvida por Jeger *et al.* (1983), para avaliar a esporulação. Cada lesão presente no tecido foi

coletada e imersa em 2 ml de água destilada mais Tween 20 a 0,01%, seguindo-se agitação em Vortex por 2 min. O número de esporos na suspensão foi quantificado usando hemacitômetro e expresso em número de esporos/ml. Com os valores de área da lesão (AL) e de esporulação (ESP), calculou-se o índice de esporulação (IE), no qual $IE = ESP/AL$, em esporos/cm².

Severidade da doença - nas plantas inoculadas por AT, diariamente, quantificou-se a severidade visualmente, até os nove dias após o aparecimento dos sintomas, quando se observou 100% de severidade em 'Texas Early Grano 502'. A severidade ao nono dia (SEV9) foi considerada como sendo a severidade máxima. Adicionalmente, por meio de amostragem destrutiva, obtiveram-se os valores de severidade média (SEV) por cultivar (Carneiro, 1998). Para tanto, coletaram-se as folhas doentes, as quais foram cortadas na altura da inserção com a bainha e achatadas, com um tubo de ensaio, para determinação das áreas respectivas, mediante a utilização de medidor de área foliar LI-COR® (modelo LI-3000A). Em seguida, recortaram-se as lesões de cada folha e as áreas lesionadas foram também determinadas com o medidor LI-COR®.

Progresso da doença - com os valores de severidade (y), quantificados ao longo dos nove dias (t), estimaram-se os valores de área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) e de taxa de progresso monocíclico da doença (r).

Delineamento experimental e análise estatística - O delineamento experimental foi o em blocos casualizados, em arranjo fatorial com dois acessos + oito cultivares e quatro isolados, com três repetições no tempo para avaliação da severidade máxima da doença, e quatro repetições no tempo para as demais avaliações. Um vaso contendo seis plantas constituiu uma parcela. Por meio de análise univariada, o germoplasma e os isolados foram comparados quanto aos valores dos componentes de resistência e de AACPD, e, quando necessário, compararam-se as médias pelo teste de Tukey (P=0,05).

Para cada combinação isolado - acesso/cultivar, estimou-se o valor de r, por meio de regressão não linear dos valores de "y" em função de "t", utilizando-se os modelos monomolecular, logístico e de Gompertz (Campbell & Madden, 1990). A seleção de modelo de melhor ajuste estatístico baseou-se na independência e normalidade de resíduos, avaliadas por meio dos gráficos dos resíduos. Os valores de r entre isolados e acessos/cultivares foram comparados por meio do intervalo de confiança da diferença (P=0,05), segundo Campbell & Madden (1990).

Utilizou-se o coeficiente de correlação de Pearson para correlacionar os componentes avaliados em cada um dos métodos de inoculação.

Realizaram-se todas as análises estatísticas com o programa SAS versão 8.

RESULTADOS**Período de Incubação (PI)**

Em plantas inoculadas por AT, o PI variou de 9,8 a 12,5 dias. Detectou-se apenas efeito significativo de isolados ($P=0,016$).

Na inoculação por DM, o PI variou de cinco a dez dias, constatando-se diferença significativa ($P=0,001$) apenas entre os acessos/cultivares. O PI em 'Baia Periforme' e no acesso BGH6911 foi maior que o em 'Baia Periforme 36' e no acesso BGH6912 (Tabela 2).

Período Latente (PL)

O PL variou entre 12-15 dias e 12-16 dias, nas inoculações por AT e DM, respectivamente (Tabela 2). Entretanto, não se detectou efeito de acessos/cultivares, nem entre os isolados do patógeno, para ambos os métodos de inoculação.

Frequência de Infecção

Em plantas inoculadas por AT, houve efeito significativo apenas de acessos/cultivares ($P<0,0001$) quanto aos valores de FII. Maior FII foi quantificada na cultivar suscetível 'Texas Early Grano 502' (4,85 lesões/folha), que diferiu da FII em 'Baia Periforme' (3,64 lesões/folha). Não houve diferença entre os demais acessos/cultivares quanto a FII.

Quanto à FI9, detectou-se efeito apenas de isolados ($P=0,0009$). Maior FI9 foi registrada para o isolado Cgg10 (5,85 lesões/folha), que diferiu da FI9 para os isolados Iso3 (4,53 lesões/folha) e Tcg1 (4,23 lesões/folha). Não houve diferença da FI9 entre os isolados Cgg10 e Cgg5 (5,26 lesões/folha).

Área de Lesão

Na inoculação por DM, detectou-se efeito apenas de acessos/cultivares quanto à área de lesão ($P=0,0008$). A área de lesão em 'Baia Periforme' (0,46 cm²), 'Baia Periforme 36'

(0,48 cm²) e o acesso BGH6912 (0,49 cm²) foi menor que em 'Texas Early Grano 502' (0,65 cm²). Houve diferença entre 'Encino' (0,62 cm²) e 'Baia Periforme'. O acesso BGH6911 (0,51 cm²), 'Baia Dura' (0,53 cm²), 'IPA4' (0,54 cm²), 'Baia Periforme 44' (0,59 cm²), 'Encino' e 'Alfa Tropical' (0,60 cm²) não diferiram entre si quanto à área da lesão.

Esporulação

Não houve efeito significativo de nenhum dos fatores avaliados quanto à esporulação.

Severidade Máxima (SEV9)

Na inoculação por AT, detectou-se efeito significativo apenas de isolados ($P<0,0001$) quanto à SEV9. Maior valor de SEV9 (0,54) ocorreu para o isolado Cgg10. As médias para os isolados Tcg1 (0,44), Cgg5 (0,44) e Iso3 (0,35) não diferiram entre si.

Severidade Estimada com o Medidor de Área Foliar (SEV)

Como em SEV9, detectou-se efeito significativo apenas de isolados ($P=0,0001$) quanto a SEV. O valor de SEV para o isolado Cgg10 (0,43) não diferiu significativamente do para o Tcg1 (0,32), que por sua vez, não diferiu do dos isolados Cgg5 (0,30) e Iso3 (0,28).

Área Abaixo da Curva do Progresso da Doença

Detectou-se efeito significativo apenas de isolados ($P=0,0006$) quanto a AACPD. A AACPD calculada para o isolado Cgg10 (2,30 severidade x dia) não diferiu significativamente da para os isolados Tcg1 (1,95 severidade x dia) e Cgg5 (1,87 severidade x dia), mas diferiu da para o isolado Iso3 (1,45 severidade x dia). Os valores de AACPD para os isolados Tcg1, Cgg5 e Iso3 não diferiram entre si.

Taxa de Progresso da Doença

Obteve-se melhor ajuste dos dados de progresso com o modelo de Gompertz, com o qual se estimaram os valores

TABELA 2 - Médias do período de incubação (PI) e período latente (PL), em dias, de quatro isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* em oito cultivares e dois acessos de cebola (*Allium cepa*), inoculados por deposição de disco de micélio ou por atomização. O valor entre parênteses indica o erro padrão da média

Germoplasma de cebola	Método de Inoculação			
	Disco de micélio		Atomização	
	PI	PL	PI	PL
Baia Periforme	9,76(1,34) a*	15,22(0,73)	10,57(0,35)	13,63(0,63)
BGH6911	9,38(1,11) ab	14,85(0,94)	10,73(0,36)	13,76(0,60)
Baia Periforme 44	8,39(0,74) abc	15,77(0,94)	11,01(0,33)	14,38(0,66)
Alfa Tropical	8,06(0,73) abc	15,02(0,89)	10,65(0,34)	13,75(0,56)
Baia Dura	8,03(0,66) abc	15,49(0,73)	10,91(0,28)	14,02(0,63)
IPA4	7,92(0,64) abc	15,41(0,81)	10,23(0,32)	14,26(0,62)
Texas Early Grano 502	6,94(0,64) bc	12,98(0,63)	10,38(0,32)	13,33(0,67)
Encino	6,76(0,55) bc	14,86(1,10)	10,65(0,14)	14,48(0,41)
BGH6912	6,37(0,24) c	12,71(1,10)	11,16(0,14)	14,11(0,44)
Baia Periforme 36	6,31(0,22) c	14,18(0,80)	11,12(0,18)	14,08(0,43)

*Apenas os valores de PI diferiram estatisticamente entre os cultivares/acessos inoculados pela deposição de disco de micélio. Para esta combinação, valores seguidos de letras diferentes diferiram segundo o Teste de Tukey ($P=0,05$).

de $B [B=-\ln(y_0)]$ e r_g (Tabela 3). Quando comparados por meio de intervalo de confiança, os valores de r_g obtidos com os isolados no acesso BGH 6911, 'Alfa Tropical', 'Baia Periforme 36', 'Baia Dura', 'IPA 4' e em 'Texas Early Grano 502' não diferiram entre si. Em BGH 6912, 'Baia Periforme 44', 'Baia Periforme' e 'Encino', maior valor de r_g ocorreu com o isolado Cgg10 e menor valor com o Iso3.

Quando se compararam os acessos/cultivares, para os quatro isolados, menor valor de r_g ocorreu no acesso BGH 6911. Entretanto, diferença significativa entre os acessos/cultivares quanto a r_g foi detectada apenas frente aos isolados Cgg5 e Iso3. Frente ao Cgg5, maiores valores de r_g ocorreram em 'Baia Periforme 36' e 'IPA4', e menores valores em BGH 6911 'Alfa Tropical' e 'Baia Dura'. Frente ao Iso3, maiores valores de r_g ocorreram em 'IPA4' e 'Texas Early Grano 502',

e menores valores em BGH 6911, BGH 6912, 'Alfa Tropical', 'Baia Periforme' e 'Encino'.

Correlação entre Componentes

Na inoculação por DM, obtiveram-se poucos valores significativos do coeficiente de correlação (r). Assim, apresentar-se-ão apenas os valores de r obtidos na inoculação por atomização (Tabela 4). Maior número de valores de r significativos foram obtidos com SEV9 e os demais componentes, bem como com AACPD e r_g e os demais componentes.

DISCUSSÃO

O método de inoculação influenciou os resultados obtidos com a quantificação de componentes de resistência

TABELA 3 - Valores de B , relacionado à doença inicial [$B=-\ln(y_0)$], e de r_g , estimados com o modelo de Gompertz, para quatro isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* em oito cultivares e dois acessos de cebola (*Allium cepa*), em experimento monocíclico em casa de vegetação

Germoplasma de cebola	Isolados de <i>C. gloeosporioides</i>							
	Cgg10		Cgg5		Iso3		Tcg1	
	B	r_g	B	r_g	B	r_g	B	r_g
BGH6911	9,60	0,15	8,27	0,13	8,17	0,12	7,19	0,12
BGH6912	14,84	0,19	12,46	0,15	10,45	0,12	11,26	0,18
Alfa Tropical	13,42	0,19	9,20	0,14	7,82	0,11	7,88	0,14
Baia Periforme36	10,37	0,18	16,09	0,21	10,79	0,15	7,84	0,13
Baia Periforme 44	13,42	0,20	11,70	0,15	8,53	0,13	10,62	0,18
Baia Dura	9,58	0,17	7,86	0,14	11,47	0,15	9,66	0,13
Baia Periforme	10,88	0,19	12,87	0,17	8,19	0,11	9,52	0,15
Encino	17,15	0,22	9,64	0,17	7,19	0,11	9,37	0,16
IPA4	15,23	0,21	15,26	0,20	12,58	0,18	8,82	0,16
Texas Early Grano 502	10,70	0,18	9,17	0,17	10,81	0,18	7,83	0,15

TABELA 4 - Coeficientes de correlação de Pearson (nível de significância), dos valores médios de doença causada por quatro isolados de *Colletotrichum gloeosporioides*, inoculados por atomização em plantas de oito cultivares e de dois acessos de cebola (*Allium cepa*)

	PI	PL	FI1	FI9	SEV9	SEV	AACPD
PL	0,43 (0,005)						
FI1	-0,15 (0,145)	-0,22 (0,164)					
FI9	-0,40 (0,011)	-0,38 (0,016)	0,55 (0,0002)				
SEV9	-0,45 (0,004)	-0,21 (0,190)	0,49 (0,001)	0,64 (<0,0001)			
SEV	-0,45 (0,004)	-0,15 (0,354)	0,49 (0,001)	0,47 (0,002)	0,80 (<0,0001)		
AACPD	-0,48 (0,002)	-0,30 (0,064)	0,54 (0,0003)	0,66 (<0,0001)	0,98 (<0,0001)	0,81 (<0,0001)	
r_g	-0,42 (0,007)	-0,19 (0,247)	0,29 (0,068)	0,47 (0,002)	0,72 (<0,0001)	0,64 (<0,0001)	0,69 (<0,0001)

^a PL=período latente (dias); PI=período de incubação (dias); SEV=severidade estimada por meio do medidor de área foliar; r_g =taxa de progresso da doença; FI9=freqüência de infecção estimada após nove dias (nº de lesões/folha); FI1=freqüência de infecção estimada no dia de aparecimento dos sintomas (nº de lesões/folha); AACPD=área abaixo da curva de progresso da doença (severidade x dia); SEV9=severidade estimada visualmente aos nove dias após inoculação.

em cebola a *C. gloeosporioides*. Na inoculação por AT, o PI variou de nove a 11 dias e o PL de 12 a 16 dias, e ambos os componentes não diferiram entre cultivares/acessos. Inoculando-se com DM, o PI e o PL variaram entre cinco e dez dias e 12-15 dias, respectivamente, e os cultivares/acessos diferiram quanto ao PI. Em outros patossistemas, observaram-se diferenças entre cultivares quanto ao PL, como em *Aeschynomene virginica* (L.) Britton, Sterns & Poggenb - *C. gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. in Penz. f. sp. *aeschynomene* (Luo *et al.*, 1997) e amendoim (*Arachis hypogaea* L.) - *Cercosporidium personatum* (Berk. & Curtis) Deighton (Aquino *et al.*, 1995). Em trigo (*Triticum aestivum* L.) - *Septoria nodorum* Berk. in Berk. & Broome, o PL é o componente mais freqüentemente estudado (Griffiths & Jones, 1987). Em amendoim - *Cercospora arachidicola* S. Hori o PL foi importante na seleção de linhagens para resistência (Ricker *et al.*, 1985). Entretanto, há patossistemas em que o PI e o PL não são componentes úteis para detectar a resistência quantitativa, como em *Stylosanthes scabra* Vog. - *C. gloeosporioides* e trigo de inverno - *S. nodorum* (Chakraborty *et al.*, 1988). Se for componente importante no patossistema cebola - *C. gloeosporioides*, provavelmente, aumentando-se o número de acessos/cultivares testados e, ou, de repetições, diferenças quanto ao PL poderão ser detectadas.

Para FII, detectou-se diferença entre alguns acessos/cultivares e 'Texas Early Grano 502'. A baixa freqüência de infecção em alguns acessos/cultivares, observada em estudos de resistência, pode ser explicada pelo mecanismo de resistência ativado durante o processo infeccioso (Bailey *et al.*, 1992), bem como pela combinação de mecanismos operando, cedo e tardiamente, durante a patogênese, hipótese levantada em vista do alto nível de resistência de alguns acessos de *Allium galanthum* Karel. & Kir. e *A. fistulosum* L. a *C. gloeosporioides* (Galván *et al.*, 1997). Estudos histológicos podem elucidar o mecanismo envolvido na redução da freqüência de infecção. Como este componente indica o sucesso no estabelecimento de infecções, poderia ser utilizado em ensaios futuros, tendo-se o cuidado de utilizar concentrações de inóculo o mais uniforme possível e de se definir bem a área de tecido avaliada. O fungo *C. gloeosporioides* sobrevive em restos culturais de cebola (Moreira, 2000) e é disperso por respingos de água de chuva ou de irrigação (Chakraborty *et al.*, 1990, Viegas, 2001). Espera-se que a FI seja um componente importante, pois quanto maior seu valor, maior será a produção de inóculo. Entretanto, para *C. gloeosporioides* f.sp. *aeschynomene* em *A. virginica* não foi possível relacionar o número de esporos produzidos por lesão ao tamanho da lesão (Luo *et al.*, 1997).

Na inoculação com DM, avaliaram-se a área da lesão (AL), esporulação (Esp) e o índice Esp/AL. A AL foi estimada com precisão e acurácia, e foi considerado um bom componente para diferenciar a resistência no germoplasma, como entre 'Baia Periforme' e o padrão de suscetibilidade, 'Texas Early Grano 502'. Este componente foi também importante nos patossistemas *Septoria lycopersici* Speg. - *Lycopersicon* spp. e em algodão (*Gossypium hirsutum* L.) - *Stemphylium*

solani Weber (Francovig *et al.*, 1999), mas não em tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) - *Alternaria solani* Sorauer (Moretto & Barreto, 1997).

A Esp é um componente de resistência freqüentemente relacionado à resistência quantitativa (Parlevliet, 1993). Nas condições deste trabalho, ocorreu variabilidade na quantificação deste componente, na inoculação com o DM, o que pode ter mascarado as prováveis diferenças entre acessos/cultivares. Necessita-se, portanto, aprimorar a técnica de inoculação e a de quantificação de esporos, pois pequenas diferenças de contagem no hemacitômetro resultam em altas diferenças nos valores calculados finais. Apesar de não se detectar diferença significativa entre cultivares quanto à Esp, observou-se diferença no índice Esp/AL, entre acessos/cultivares e 'Texas Early Grano 502'.

Utilizaram-se dois métodos para quantificar a severidade da doença. Planejou-se utilizar uma escala de notas, porém em vista de deficiências na escala existente (Galván *et al.*, 1997) e pela facilidade de se avaliar a área lesionada em folhas de cebola, quantificou-se a severidade diretamente. Com os valores de SEV9 e de SEV, obtiveram-se diferenças entre isolados, mas não entre acessos/cultivares. Apesar de SEV9 ter sido de 0,53 e de 0,36 em 'Texas Early Grano 502' e BGH 6911, respectivamente (dados não apresentados) a variabilidade dos resultados (coeficiente de variação= 38%) pode ter obscurecido a detecção de diferenças significativas. Em vista da facilidade de quantificação, SEV9 poderá ser utilizada para avaliar a resistência quantitativa em cebola a *C. gloeosporioides*, aumentando-se o número/tamanho de parcelas e executando-se treinamento mais cuidadoso do avaliador.

A AACPD provê informações quantitativas que expressam, de modo integrado, o efeito da resistência na redução da intensidade de doença (Jeger & Viljanen-Rollinson, 2001), o que pode auxiliar na identificação de fontes promissoras de resistência. Entretanto, com a AACPD, não se obtiveram diferenças entre acessos/cultivares, mas sim entre isolados, provavelmente pelos motivos mencionados para SEV9.

Nos ensaios monocíclicos, estimaram-se, também, os valores de r_g nas diferentes combinações acessos/cultivares e isolados. Por meio da análise do intervalo de confiança, detectaram-se diferenças quanto à suscetibilidade de acessos/cultivares ao patógeno, como 'Texas Early Grano 502' como a mais suscetível e BGH 6911 mais resistente a dois isolados. Em estudos posteriores, será possível observar se os valores obtidos em testes monocíclicos, conduzidos sob condições controladas, equivaleriam àqueles estimados em ensaios policíclicos, conduzidos em condições de campo.

Com a estimativa dos componentes de resistência, foi possível detectar material resistente a *C. gloeosporioides*: o acesso BGH6911 e a cultivar Baia Periforme. Assim, estes dois materiais seriam importantes para o plantio comercial e, ou, em programa de melhoramento. Em estudos similares, o acesso 95001 da espécie *A. roylei* foi promissor para uso em programas de melhoramento (Galván *et al.*, 1997). É importante mencionar que, apesar de os componentes de

resistência serem extremamente utilizados, não é seguro concluir se os valores de cada componente, obtidos sob condições controladas, terão as mesmas tendências, sob condições de campo (Deadman, 1998). Como já referido, ensaios de campo posteriores são requeridos para confirmar as respostas obtidas neste trabalho.

Na avaliação de alguns dos componentes, vale destacar a maior agressividade do isolado Cgg10. Portanto, em estudos similares, é importante avaliar os componentes de resistência frente a isolados de outras regiões onde a doença é problema sério, como Santa Catarina, ou mesmo com misturas de isolados de *C. gloeosporioides* (Boff, 1996). Com o uso de maior número de acessos/cultivares e de isolados ter-se-á maior segurança em quantificar os componentes de resistência em cebola à antracnose foliar.

Nos estudos de correlação, maiores valores de “r” estiveram sempre associados às estimativas de severidade. Ademais, é interessante observar que se obteve alta correlação entre a severidade estimada visualmente e aquela estimada pelo medidor eletrônico. Conclui-se que o avaliador apresentou boa acurácia e que, para este patossistema, provavelmente seja dispensável o uso de escalas/diagramas para quantificar a severidade da doença. A severidade estimada visualmente foi também correlacionada à r_g e à AACPD. Pode-se conjecturar que, em experimentos de campo, o valor de SEV9 é importante na determinação de resistência de cultivares de cebola à antracnose.

Os componentes estimados na inoculação por AT não se correlacionaram àqueles estimados na inoculação com DM. Neste último método, obteve-se alta variabilidade dos resultados, principalmente pela dificuldade de se manterem os discos aderidos às folhas de cebola, e pelo tempo variável de adesão dos discos. Assim, em vista da melhor eficiência de infecção, menor variabilidade dos resultados e fácil uso, a atomização foi o método mais adequado para a inoculação e subsequente avaliação de resistência do germoplasma.

Em estudos de resistência de cultivares e acessos de *S. scabra* a *C. gloeosporioides*, em 1988 e 1989, correlacionaram-se os componentes: esporulação, frequência de infecção (FI), AACPD, severidade estimada com o auxílio de escala de notas à taxa de progresso da doença em condições de campo, mas não se obteve correlação significativa entre a taxa e os demais componentes em ambos os anos (Chakraborty *et al.*, 1990). No presente estudo, obteve-se alta correlação de r_g à severidade estimada pelo medidor de área foliar. Para *S. scabra* x *C. gloeosporioides*, em 1988 e 1989, houve correlação significativa de AACPD e a severidade (Chakraborty *et al.*, 1990), bem como no presente estudo. Em 1988, a FI correlacionou-se significativamente à esporulação e severidade, o que não ocorreu em 1989, enquanto a esporulação correlacionou-se à AACPD e à severidade em ambos os anos (Chakraborty *et al.*, 1990). No presente estudo, FI e Esp não se correlacionaram. Apesar de os patossistemas serem diferentes, é interessante uma análise comparativa entre os dois estudos apresentados. Mais estudos envolvendo *C. gloeosporioides* – cebola são requeridos, principalmente em

condições de campo, para validar os resultados obtidos no presente trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AQUINO, V.M., SHOKES, F.M., GORBET, D.W. & NUTTER Jr, F.W. Late leaf spot progression on peanut as affected by components of partial resistance. *Plant Disease* 79:74-78. 1995.
- ASSUNÇÃO, I.P., COELHO, R.S.B., LIMA, G.S.A., LIMA, J.A.S. & TAVARES, S.C.C.H. Reação de cultivares de cebola a isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* coletados na região do Submédio São Francisco. *Summa Phytopathologica* 25:205-209. 1999.
- BAILEY, J.A., O'CONNELL, R.J., PRING, R.J. & NASH, C. Infection strategies of *Colletotrichum* species. In: Bailey, J.A. & Jeger, M.J. (Eds.) *Colletotrichum: Biology, Pathology and Control*. Wallingford, CAB International, 1992. pp.88-120.
- BOFF, P. Levantamento de doenças na cultura de cebola, em Santa Catarina. *Fitopatologia Brasileira* 21:110-114. 1996.
- CAMPBELL, C.L. & MADDEN, L.V. *Introduction to Plant Disease Epidemiology*. New York, John Wiley, 1990.
- CARDOSO, A.I.I., DELLA VECCHIA, P.T. & FARIA, L.P. Herança de coloração de bulbos em cebola (*Allium cepa* L.) com resistência a *Colletotrichum gloeosporioides*. *Science Agriculture* 52:384-386. 1995.
- CARNEIRO, L.C. Influência da temperatura e do molhamento foliar no monociclo do “mal-de-sete-voltas” da cebola e transporte de *Colletotrichum gloeosporioides* f.sp. *cepae* pela semente. (Tese de Mestrado) Piracicaba, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. 1998.
- CHAKRABORTY, S., CAMERON, D.F., IRWIN, J.A.G. & EDYE, L.A. Quantitatively expressed resistance to anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) in *Stylosanthes scabra*. *Plant Pathology* 37:529-537. 1988.
- CHAKRABORTY, S., PETTITT, A.N., BOLAND, R.M. & CAMERON, D.F. Field evaluation of quantitative resistance to anthracnose in *Stylosanthes scabra*. *Phytopathology* 80:1147-1154. 1990.
- COSTA, C.P., FERNANDES, F.T. & FONSECA, J.N.L. Resistência em cebola (*Allium cepa* L.) ao mal de sete voltas (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.). *Revista Olericultura* 14:24-25. 1974.
- DEADMAN, M.L. Epidemiological consequences of plant disease resistance. In: Gareth Jones, D. (Ed.) *The Epidemiology of Plant Diseases*. Dordrecht. Kluwer Academic Publishers, 1998. pp.123-137.
- FRANCOVIG, P.C., MEHTA, Y.R., FONSECA, JR., N.S. & REIS, E.M. Source of resistance to *Stemphylium solani* in cotton cultivars. *Summa Phytopathologica* 25:216-221. 1999.
- GALVÁN, G.A., WIESTSMA, W.A., PUTRASEMEDJA, S., PERMADI, A.H. & KIK, C. Screening for resistance to anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) in *Allium cepa* and its wild relatives. *Euphytica* 95:173-178. 1997.
- GRIFFITHS, H.M. & JONES, D.G. Components of partial resistance as criteria for identifying resistance. *Annals of Applied Biology* 110:603-610. 1987.
- HADDAD, F., MAFFIA, L.A. & MIZUBUTI, E.S.G. Avaliação de fungicidas para controle de *Colletotrichum gloeosporioides* em cebola. *Fitopatologia brasileira* 28:435-437. 2003.

- JEGER, M.J., GRIFFITHS, E. & JONES, D.G. Seasonal variation in the components of partial resistance of seedlings of winter wheat cultivars Maris Huntsman and Maris Ranger to *Septoria nodorum*. *Plant Pathology* 32:187-195. 1983.
- JEGER, M.J. & VILJANEN-ROLLINSON, S.L.H. The use of the area under the disease-progress curve (AUDPC) to assess quantitative disease resistance in crop cultivars. *Theoretical and Applied Genetics* 102:32-40. 2001.
- KING, W.T., MADDEN, L.V., ELLIS, M.A. & WILSON, L.L. Effects of temperature on sporulation and latent period of *Colletotrichum* spp. infecting strawberry fruit. *Plant Disease* 81:77-84. 1997.
- LUO, Y. & TEBEEST, D.O. Infection components of wild-type and mutant strains of *Colletotrichum gloeosporioides* f.sp. *aeschynomene* on Northern Jointvetch. *Plant Disease* 81:404-409. 1997.
- MARANHÃO, E.H.A., CAVALCANTE, V.A.L.B., CANDEIA, J.A., MARANHÃO, E.A.A., LYRA FILHO, H.P. & RODRIGUES, V.J.L.B. Avaliação do controle químico do “mal-de-sete-voltas” em cebola, causado pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, no estado de Pernambuco. *Horticultura Brasileira* 15:230. 1997.
- MOREIRA, A.J.A. Epidemiologia da antracnose foliar da cebola causada por *Colletotrichum gloeosporioides*. (Tese de Mestrado). Viçosa, Universidade Federal de Viçosa. 2000.
- MORETTO, K.C.K. & BARRETO, M. Efeito do critério de avaliação na determinação de resistência de tomateiro à pinta preta. *Summa Phytopathologica* 23:228-231. 1997.
- PARLEVLIET, J.E. What is durable resistance, a general outline. In: Jacobs, T. & Parlevliet, J.E. (Eds.) *Durability of disease resistance*. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers. 1993. pp.23-39.
- RICKER, M.D., BEUTE, M.K. & CAMPBELL, C.L. Components of resistance in peanut to *Cercospora arachidicola*. *Plant Disease* 69:1059-1064. 1985.
- VIEGAS, E.N. Dispersão de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente etiológico de antracnose da cebola, pela água. (Tese de Mestrado). Viçosa. Universidade Federal de Viçosa. 2001.