

Reação de Plantas de Milho Inoculadas nas Folhas e no Colmo com Diferentes Isolados de *Colletotrichum graminicola*

Alessandro Nicoli¹, Laércio Zambolim¹, Rodrigo Vêras da Costa², Luciano Viana Cota², Dagma Dionísia da Silva², Fabrício Eustáquio Lanza¹, Talita Coeli D'Angelis de Aparecida Ramos³, Marielle Martins Marcondes⁴, Lorena de Oliveira Moura⁵ e Carla Lima Corrêa⁶.

¹Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, ²Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, ³UNIFEM, Sete Lagoas, MG, ⁴Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, PR, ⁵Universidade Federal de São João Del-Rei, Sete Lagoas, MG, ⁶Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. E-mail: alessandro.nicoli@ufv.br; zambolim@ufv.br; veras@cnpmc.embrapa.br; lvkota@cnpmc.embrapa.br; dagma@cnpmc.embrapa.br; fabricao.lanza@ufv.br; talita.tchely@hotmail.com; m_lelinha@hotmail.com; lorena.om@hotmail.com; correa.carla@yahoo.com.br

RESUMO - A antracnose é uma das doenças mais importantes do milho. A principal medida de controle é o uso de híbridos resistentes, mas a resposta da folha e colmo à doença pode ser diferente. O objetivo do trabalho foi avaliar a reação desses dois órgãos a diferentes isolados de *C. graminicola*. Folhas e colmos do híbrido BRS 1010 foram inoculados com vinte isolados de *C. graminicola* em casa de vegetação. Nas folhas, a inoculação foi realizada aos 20 dias após a emergência das plantas (DAE) e a avaliação aos 15 dias após a inoculação. Nos colmos, a inoculação foi realizada no pré-pendoamento e a avaliação 30 dias após a inoculação. Análise estatística foi usada para comparar os tratamentos e analisar a correlação entre a antracnose foliar e do colmo. A antracnose foi alta nas folhas e nos colmos, e a correlação entre os dois órgãos foi significativamente positiva ($r = 0,806$; $P < 0,01$). Nas folhas, verificou-se diferenças na severidade causada pelos isolados. No colmo, as lesões apresentaram acima de 75% de tecido necrosado. Assim, o BRS 1010 foi suscetível a todos os isolados e não houve diferença entre folha e colmo em relação à antracnose nesse híbrido.

Palavras-chave: antracnose, severidade, milho.

Introdução

A antracnose (*Colletotrichum graminicola* (Ces.) G.W.Wils.) é uma das doenças mais importantes na cultura do milho, podendo ocorrer em todas as partes das plantas. No limbo foliar, as lesões necróticas ocorrem de forma variada e nas nervuras é comum a presença de lesões elípticas com frutificações do fungo (acérvulos). A infecção do colmo inicia pelos conídios provenientes das lesões foliares ou de restos culturais, resultando no surgimento de lesões estreitas e longitudinais no colmo, com aspecto encharcado e posteriormente tornando-se escuras. Na parte interna do colmo é observado uma coloração marrom-escura que entra em processo de desintegração, afetando o fluxo de nutrientes do colmo para as espigas e, podendo ocasionar a morte prematura e o acamamento das plantas, com conseqüente redução na produtividade da cultura (BERGSTROM e NICHOLSON, 1999; CASELA et al., 2006; COSTA et al., 2010).

Para o controle da antracnose, um conjunto de medidas é recomendado como a rotação de culturas, adubação equilibrada, densidade de plantas adequada e evitar a ocorrência de injúrias no colmo. No entanto, a principal medida de controle dessa doença é o uso de cultivares resistentes (COTA et al., 2010; PEREIRA et al., 2005). Tem sido verificado que a resposta dos híbridos à antracnose pode ser diferente quando a infecção pelo fungo ocorre nos tecidos das folhas ou do colmo (LIM e WHITE, 1978; ZUBER et al., 1981). Segundo Lim e WHITE (1978), a reação de plantas de milho à antracnose foliar não foi correlacionada com a reação da antracnose no colmo, indicando uma ausência de relação direta e sugerindo uma influência de mecanismos diferentes entre esses dois órgãos. No Brasil, não existem trabalhos relacionando a infecção da antracnose em órgãos específicos das plantas. Assim, este trabalho teve como objetivo estudar a reação do milho à infecção por *C. graminicola* nos tecidos das folhas e colmo, visando evidenciar a existência ou não de relação entre os mecanismos de resistência nas folhas e colmos de plantas de milho.

Material e Métodos

Foram conduzidos dois experimentos em casa-de-vegetação no delineamento inteiramente casualizado, utilizando 20 isolados de *C. graminicola* obtidos de folhas e colmos de milho (Tabela 1) e uma testemunha (plantas inoculadas com palito livre de inóculo), com três repetições (vasos) para cada tratamento. O genótipo utilizado para inoculação dos isolados foi o híbrido simples BRS 1010 (Embrapa) de ciclo precoce.

O inóculo dos isolados de *C. graminicola* foi preparado em condições de laboratório. Para isso, cada isolado foi transferido para placas de Petri contendo o meio de cultura FAA (60g farinha de aveia, 15g de agar e 1000 ml água deionizada) e, em seguida, mantido em câmara de crescimento a 28 ± 2 °C sob luz fluorescente contínua. Após cinco dias de crescimento, foi realizada uma raspagem superficial do micélio para induzir a esporulação do fungo. Quatro dias depois, para a liberação dos esporos do fungo, foi utilizada água destilada esterilizada para a raspagem superficial e ajustada suspensão de esporos na concentração de 10^6 conídios/ mL para cada isolado (FERREIRA e CASELA, 1986).

Inoculação e avaliação da antracnose foliar:

As inoculações dos isolados foram realizadas por meio de pulverização das plantas até o ponto de escorrimento, aos 20 dias após a emergência das plantas. A avaliação da doença foi realizada aos 15 dias após a inoculação, com auxílio de uma escala de notas descrita a seguir:

1,0 (ausência de sintomas); 1,5 a 2,0 (infecção leve, presença de pequeno número de lesões alongadas sem esporulação, com até 10% da área foliar afetada); 2,1 a 2,5 (infecção leve a moderada, presença de lesões alongadas sem esporulação ou de reação de hipersensibilidade, com até 11% a 15% da área foliar afetada); 2,6 a 3,0 (infecção severa com grande número de lesões esporulantes e com alguma coalescência, de 16% a 20%); 3,1 a 4,9 (infecção severa com grande número de lesões esporulantes e com alguma coalescência, de 21% a 40% da área foliar afetada); 5,0 (Infecção muito severa, com lesões abundantes e coalescidas. Mais de 40% da área foliar afetada) (FERREIRA e CASELA, 1986). Plantas com notas acima de 3,0 (apresentando esporulação do fungo) foram considerados como suscetíveis.

Inoculação e avaliação da antracnose no colmo:

As inoculações foram realizadas na fase de pré-pendoamento (aproximadamente 60 dias após o plantio), adotando-se o método do palito imerso na suspensão de esporos. Antes das inoculações, as três folhas baixeras foram removidas, expondo-se os três entrenós da base do colmo e, em seguida, foi realizada uma desinfestação superficial dos colmos. Para inocular o fungo, o terceiro entrenó das plantas foi perfurado com uso de um furador manual esterilizado e, em seguida, foi inserido o palito contendo a suspensão de esporos, o qual permaneceu no colmo até o momento das avaliações (COSTA et al., 2010; COTA et al., 2010).

A avaliação da antracnose foi realizada aos 30 dias após as inoculações. Para isso, os colmos foram cortados longitudinalmente e a extensão das lesões (severidade) foi avaliada utilizando-se a escala diagramática utilizada por CHRISTENSEN e WILCOXSON (1966), adaptada para a antracnose do colmo. Essa escala é composta de quatro notas de avaliação, sendo 1 (até 25% do tecido do entrenó necrosado), 2 (26 a 50% do tecido necrosado), 3 (51 a 75% do tecido necrosado) e 4 (76 a 100% do tecido necrosado).

Análise estatística:

Os dados de avaliação da antracnose foliar e do colmo foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas utilizando o teste de Tukey à 5% de probabilidade. Foi realizada uma análise de correlação de Pearson para avaliar a relação entre a severidade (nota) da antracnose foliar e do colmo no híbrido BRS 1010. Foi utilizado o programa GENES para as análises.

Resultados e Discussão

Os 20 isolados de *C. graminicola* causaram doença nas folhas e nos colmos do cultivar BRS 1010 (Tabela 2). Todos os isolados resultaram em nota superior a 3 quando inoculados nas folhas, o que demonstra que, em todos os casos, foi detectada esporulação do fungo nas folhas do híbrido BRS 1010. No colmo, os isolados causaram severidade de aproximadamente 100%, com exceção do isolado 19.09, cuja severidade média foi de aproximadamente 75%, sendo diferente dos outros isolados. Foi observado alto coeficiente de correlação positiva entre a severidade da antracnose das folhas e dos colmos ($r = 0,806$; $P < 0,01$). Este resultado evidencia que a suscetibilidade nos dois órgãos (folha e colmo), para o cultivar BRS 1010, foi semelhante quanto a reação à antracnose.

No experimento de antracnose foliar, todas as plantas apresentaram esporulação do fungo *C. graminicola*. Conforme proposto por FERREIRA e CASELA (1986), genótipos com notas acima de 3,0, ou seja, apresentando esporulação do fungo, podem ser considerados como materiais suscetíveis. No colmo, a lesão ocorreu em praticamente toda área do entrenó inoculado. Assim, esse híbrido BRS 1010 pode ser considerado um material suscetível a todos os isolados de *C. graminicola* utilizados nesses experimentos.

O tratamento testemunha no experimento das folhas não apresentou qualquer sintoma de lesões da antracnose, no entanto, no colmo foram observados 10% da área do colmo apresentando descolorações do tecido vascular. Esses fragmentos do colmo do tratamento testemunha apresentando descolorações foram levados ao laboratório para a realização de testes de isolamento de fungos, em meio FAA. Não foi observado crescimento micelial ou de qualquer outra estrutura fúngica de *C. graminicola* após 15 dias em câmara de crescimento. Assim, é provável que essa pequena descoloração no tecido vascular das plantas testemunhas tenha sido uma reação natural da planta ao ferimento causado pelo furador e ao palito inserido no local.

Considerando a agressividade de *C. graminicola*, somente na folha, foi possível observar diferença entre os isolados. Os isolados 03.09, 64.07, 88.07, 25.08, 22.09 e 61.07 foram os mais agressivos, com notas acima de 4,0, estatisticamente superiores aos demais isolados. Os isolados 29.08 e 06.08 resultaram em menor severidade da antracnose foliar, porém com notas acima 3,0. Além disso, não houve diferença entre os isolados obtidos de folha daqueles obtidos do colmo, onde todos apresentaram igual capacidade de colonizar e causar antracnose nos dois órgãos do híbrido BRS 1010.

O fato de não ter sido detectada diferença de reação nas folhas e no colmo pode estar relacionada à elevada suscetibilidade do cultivar BRS1010. Em cultivares com diferença na

suscetibilidade é possível que a reação nas folhas e colmo seja distinta. Para maiores informações sobre a resistência à antracnose em diferentes órgãos da planta, como, folha e colmo, outros genótipos de milho e outros isolados de *C. graminicola* devem ser estudados.

Conclusões

- 1 – Há correlação positiva entre a reação da folha e do colmo à antracnose.
- 2 - O híbrido BRS 1010 foi suscetível a todos os isolados de *C. graminicola*, independente de sua origem.

Agradecimentos

À FAPEMIG e ao CNPq pelo apoio financeiro concedido.

Literatura Citada

BERGSTROM, G. C.; NICHOLSON, R. L. The biology of corn anthracnose: knowledge to exploit for improved management. *Phytopathology*, v.83, p. 596-608, 1999.

CASELA, C. R.; FERREIRA, A. S.; PINTO, N. F. J. A. Doenças na cultura do milho. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2006. 14 p. (Circular técnica, 83).

COSTA, R.V.; COTA, L.V.; PARREIRA, D.F.; SILVIA, D.D.; GUIMARÃES, P.E.; GUIMARÃES, L.J.M.; PARENTONI, S.N.; PACHECO, C.A. Desenvolvimento de metodologia para inoculação de *Colletotrichum graminicola* em colmo de milho. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2010. 8 p. (Circular técnica, 139).

COTA, L.V.; COSTA, R.V.; GUIMARÃES, P.E.; GUIMARÃES, L.J.M.; PARENTONI, S.N.; PACHECO, C.A.; SILVIA, D.D.; PARREIRA, D.F. Métodos de inoculação de *Colletotrichum graminicola* em colmo de milho. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2010. 7 p. (Circular técnica, 137).

CHRISTENSEN, J.J.; WILCOXSON, R.D. Stalk rot of corn. St. Paul: American Phytopathological, 1966. 59 p. (American Phytopathological Society. Monograph, 3).

FERREIRA, A. S.; CASELA, C. R. Raças patogênicas de *Colletotrichum graminicola*, agente causal da antracnose do sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). *Fitopatologia Brasileira*, v.11, p.83-86, 1986.

LIM, S. M.; WHITE, D. G. Estimates of heterosis and combining ability for resistance of maize to *Colletotrichum graminicola*. *Phytopathology*, v.68, p.1336-1342, 1978.

PEREIRA, O. A. P.; CARVALHO, R.V.; CAMARGO, L.E.A. Doenças do milho (*Zea mays*). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. (Eds.) Manual de fitopatologia - Doenças das plantas cultivadas. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. p. 477-488.

ZUBER, M.S.; AINSWORTH, T.C.; BLANCO, M.H.; DARRAH, L. L. Effect of antracnose leaf blight on stalk rind strength and yield in F₁ single crosses in maize. *Plant Disease*, v. 65, p.719-722, 1981.

Tabela 1. Isolados de *Colletotrichum graminicola* utilizados para inoculação de folhas e colmo de milho.

Isolados	Origem do isolado	Cidade de coleta
61.07	colmo	Sete Lagoas - MG
62.07	colmo	Sete Lagoas - MG
64.07	colmo	Sete Lagoas - MG
84.07	colmo	Sete Lagoas - MG
85.07	colmo	Sete Lagoas - MG
88.07	colmo	Sete Lagoas - MG
91.07	colmo	Xapecó - SC
01.08	colmo	Sete Lagoas - MG
04.08	colmo	Sete Lagoas - MG
06.08	colmo	Sete Lagoas - MG
23.08	folha	Sete Lagoas - MG
25.08	folha	Sete Lagoas - MG
29.08	folha	Sete Lagoas - MG
30.08	folha	Sete Lagoas - MG
35.08	folha	Sete Lagoas - MG
44.08	folha	Sete Lagoas - MG
03.09	folha	Sete Lagoas - MG
19.09	folha	Campo Mourão - PR
22.09	folha	Campo Mourão - PR
47.09	folha	Cascavel - PR

Tabela 2. Severidade da antracnose em folhas e colmos do híbrido BRS 1010, inoculado com vinte isolados de *C. graminicola*.

Isolados <i>C. graminicola</i>	Nota na Folha		Nota no Colmo	
03.09 ¹	4,67	a*	3,87	a*
64.07 ²	4,50	a	4,00	a
88.07 ²	4,50	a	4,00	a
25.08 ¹	4,33	ab	4,00	a
22.09 ¹	4,33	ab	4,00	a
61.07 ²	4,33	ab	4,00	a
30.08 ¹	3,83	bc	4,00	a
62.07 ²	3,83	bc	4,00	a
85.07 ²	3,83	bc	3,93	a
44.08 ¹	3,67	cd	3,87	a
84.07 ²	3,67	cd	4,00	a
01.08 ²	3,67	cd	3,93	a
47.09 ¹	3,50	cd	3,87	a
23.08 ¹	3,33	cd	4,00	a
35.08 ¹	3,33	cd	4,00	a

19.09 ¹	3,33	cd	3,17	b
91.07 ²	3,33	cd	3,93	a
04.08 ²	3,33	cd	3,80	a
29.08 ¹	3,17	d	4,00	a
06.08 ²	3,17	d	3,87	a
Testemunha	1,00	e	0,50	c

¹ Isolados obtidos de folha de milho com antracnose. ² Isolados obtidos de colmo de milho com antracnose.

* Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).