



# Resistência de cultivares de milho (*Zea mays* L.) à antracnose foliar no estágio de plântula

João Américo Wordell Filho<sup>1</sup>

**Resumo** – A antracnose foliar, doença causada pelo fungo *Colletotrichum graminicola* (Ces.), é considerada de importância nas regiões produtoras de milho, sendo seu controle realizado unicamente por meio da resistência e tratos culturais. Com o objetivo de avaliar a resistência de genótipos de milho à antracnose foliar foram testadas 72 cultivares em estágio de plântula, considerando-se a severidade e o período de incubação em câmaras climatizadas e em casa de vegetação. Para determinar a severidade da doença, baseou-se na porcentagem visual de área foliar necrosada (zero a 100%). As cultivares testadas apresentaram diferenças quanto à severidade da doença sem que nenhuma pudesse ser considerada resistente. O período de incubação não permitiu diferenciar as cultivares avaliadas quanto à resistência à mancha foliar de antracnose.

**Termos para indexação:** Severidade, período de incubação, *Colletotrichum graminicola*.

## Resistance of corn cultivars to anthracnose in the seedling stage

**Abstract** – Anthracnose leaf blight, a disease in maize caused by *Colletotrichum graminicola* (Ces.), is considered very important in production areas whose control is achieved only through resistance and cultural practices. This study was carried out with the objective of evaluating the resistance of 72 corn cultivars, in seedling age, to leaf anthracnose, considering the severity and incubation period both in an acclimatized chamber and in a greenhouse. The severity of the disease was determined based on the visual percentage of necrotic leaf area (zero to 100%). The cultivars differed in the degree of severity of the disease although none could be considered resistant. The incubation period did not permit differentiating the cultivars in relation to resistance to leaf spot of anthracnose.

**Index terms:** Severity, incubation period, *Colletotrichum graminicola*.

## Introdução

O milho (*Zea mays* L.) é uma das principais culturas agrícolas brasileiras e mundiais, ocupando, no Brasil, uma área agrícola de aproximadamente 52 milhões de hectares, representando 26% da área colhida e 42% dos grãos produzidos no País. Na comparação com outros países, o Brasil é o terceiro maior produtor, atrás dos EUA e da China. A produtividade brasileira, no entanto, é de 3.650kg/ha, sendo muito baixa quando comparada à média dos dois principais países produtores, EUA e China, que é aproximadamente 8.903kg/ha, o que

tem como causas algumas adversidades climáticas, principalmente a restrição hídrica e a incidência de doenças, tais como as ferrugens, helmintosporiose, cercosporiose e antracnose (Brugnago Neto, 2007). Dentre elas, a antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum graminicola* (Ces), pode manifestar-se em qualquer parte da planta, principalmente em folha (Figura 1) e colmo. No Brasil, o *C. graminicola* está amplamente distribuído nas regiões produtoras de milho (Cruz et al., 1996). A doença ocorre em todas as principais regiões produtoras do Brasil e em qualquer época de semeadura do milho

(Fernandes & Balmer, 1990). De acordo com Bergstrom & Nicholson (1999), lesões foliares servem de fonte de inóculo para infecções no colmo, que podem causar tombamento da planta, comprometendo a produtividade na ordem de 18% (Carson & Hooker, 1981b) a 40% (Smith, 1976; Perkins & Hooker, 1979; White et al., 1979; Callaway et al., 1992).

Devido às grandes extensões de áreas plantadas, à utilização da sucessão em vez da rotação e ao uso de cultivares com base genética estreita, tem aumentado a ocorrência do *C. graminicola* nas regiões produtoras de milho (Barbosa, 2001; Cruz et al., 1996). ►

Aceito para publicação em 29/1/10.

<sup>1</sup> Eng.-agr. D.Sc., Epagri/Centro de Pesquisa para Agricultura Familiar (Cepaf), C.P. 791, 89801-970 Chapecó, SC, fone: (49) 3361-0600, e-mail: wordell@epagri.sc.gov.br.

O controle da antracnose consiste no desenvolvimento de híbridos/variedades resistentes. O controle químico aumenta o custo de produção e apresenta riscos de contaminação do ambiente. Além disso, a eficiência desses produtos depende do momento da aplicação e das condições ambientais. Portanto, a resistência genética aliada a práticas culturais é a medida que dá sustentabilidade à cultura do milho. Diante da potencialidade da doença, sobretudo em sua forma foliar devido à maior facilidade de disseminação dos esporos, o emprego de genótipos resistentes surge como medida promissora de controle (Silva, 1983).

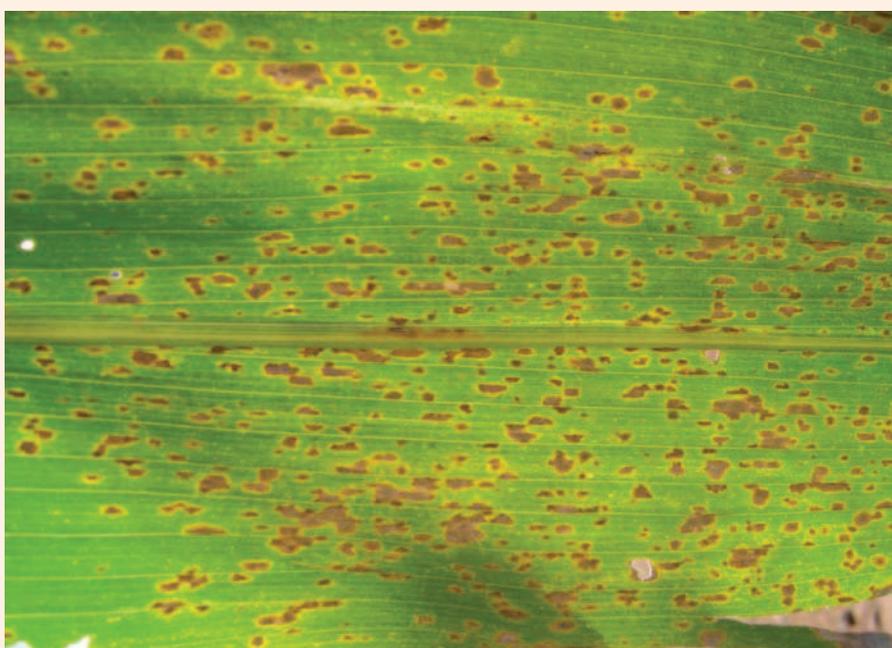


Figura 1. Sintoma da infecção do fungo *Colletotrichum graminicola* em

A seleção para resistência exige precisão nos testes fenotípicos, principalmente naqueles relativos à escolha de cultivares para uso em cruzamentos visando à resistência à antracnose foliar. O objetivo deste trabalho foi avaliar em plântula o grau de resistência do milho à antracnose foliar.

## Material e métodos

O experimento foi realizado no Laboratório de Fitopatologia e em casa de vegetação da Epagri/Centro de Pesquisa para Agricultura

Familiar (Cepaf), em Chapecó, SC, no ano de 2008. Foram avaliadas 72 cultivares de milho oriundas de diversos programas de melhoramento (Tabela 1) quanto à severidade foliar causada por *C. graminicola* e quanto ao período de incubação.

## Obtenção do isolado de *Colletotrichum graminicola*

O isolamento de *C. graminicola* foi realizado a partir de acérvulos retirados de folhas de milho provenientes de campos de produção

em Chapecó, SC, (isolado SC-01). Para manutenção da patogenicidade, o isolado foi inoculado a cada dois meses em plântulas de milho com quatro a cinco folhas e reisolados após cada inoculação.

## Semeadura dos genótipos, preparo do inóculo e inoculação

Os genótipos de milho foram semeados em vasos plásticos com aproximadamente 400g de substrato (marca Tecnomax), semeando quatro sementes por vaso. A irrigação foi

realizada fornecendo cerca de 10ml de água/vaso a cada 2 dias. As plantas permaneceram em casa de vegetação, adotando temperatura média de 25°C. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, sendo cada unidade experimental um vaso contendo quatro plantas.

Para obtenção do inóculo, o isolado monospórico SC-01 de *C. graminicola* foi cultivado em placas de Petri por um período de 20 dias em meio de aveia-ágar (40g aveia, 17g ágar, 1L água), sob regime de alternância luminosa (12/12h) com lâmpadas fluorescentes de 20W a 22°C. A suspensão do inóculo foi obtida pela adição de 20ml de água destilada a cada placa e raspagem da colônia com auxílio de espátula. O sobrenadante foi filtrado com duas camadas de gaze para eliminar os fragmentos de micélio, e após esse período foram visualizadas sob microscópio estereoscópico para determinar a viabilidade dos conídios, com a leitura 100 esporos/placa de forma aleatória. Consideraram-se viáveis os esporos nos quais o tubo germinativo era maior do que o maior diâmetro do conídio. Conhecendo a viabilidade do inóculo foi possível corrigir uma possível discrepância quanto à germinação.

Após a calibragem da concentração da suspensão para  $5,0 \times 10^5$  conídios viáveis/ml, foi adicionado 0,01% do surfactante Tween 80®. As inoculações foram feitas mediante pulverização das folhas em plantas com 15 dias de idade (estádio V2) (Ritchie & Hanway, 1982). A pulverização foi realizada com um atomizador (modelo SGA 570 DeVilbiss Co. Somerset, PA) acoplado a uma bomba de ar aplicando aproximadamente 2ml de suspensão de conídios por repetição. As plantas inoculadas foram mantidas em câmara úmida (98% UR, fotoperíodo de 12h,  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ) e após 24h foram transferidas para casa de vegetação ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ), onde permaneceram até a avaliação. A avaliação da severidade dos sintomas foi feita 10 dias após a inoculação, baseando-se na percentagem visual de área foliar

Tabela 1. Características agrônômicas das cultivares de milho submetidas à avaliação de resistência à antracnose foliar

Cultivar	Tipo <sup>(1)</sup>	Ciclo <sup>(2)</sup>	Textura do grão	Cultivar	Tipo <sup>(1)</sup>	Ciclo <sup>(2)</sup>	Textura do grão
DKB 789	HD	P	Semiduro	SHS 4050	HD	SP	Duro
DKB 2040	S/I	S/I	S/I	SHS 4060	HD	P	Semiduro
DKB 234	HS	SP	Dentado	SHS 4070	HD	N	Dentado
DKB 747	HD	P	Duro	SHS 4080	HD	P	Semiduro
DKB 566	HT	P	Semidentado	SHS 5050	HT	SP	Semiduro
DKB 330	HS	SP	Semidentado	SHS 5070	HT	SP	Duro
DKB 979	HD	P	Semiduro	SHS 5080	HT	P	Semiduro
AG 6018	HT	SP	Duro	SHS 3035	S/I	S/I	S/I
AG 8021	HS	P	Semidentado	AS 1533	S/I	S/I	S/I
AG 9020	HS	SP	Dentado	AS 1535	HS m	P	Semiduro
AG 2020	HD	P	Semiduro	AS 1540	HSm	P	Semiduro
AG 6020	HD	SP	Duro	AS 1548	HSm	P	Semiduro
AG 122	HD	P	Semidentado	AS 1570	HS	P	Semiduro
AG 2040	HD	P	Semiduro	AS 1575	HS	P	Semiduro
AG 2060	HD	P	Semiduro	AS 3430	HT	P	Duro
AG 5011	HT	P	Dentado	AS 3466	HT	P	Semiduro
AG 8011	HT	P	Dentado	AS 3477	S/I	S/I	S/I
SCS154 Fortuna	V	P	Duro	AS 1567	HS	S/I	Semiduro
SCS155 Catarina	V	P	Duro	AS 1545	HS	P	Semiduro
DOW 2B707	HS	P	Semiduro	AS 1560	HS	P	Semiduro
DOW 2B587	HS	P	Semidentado	AS 32	HP	P	Semiduro
DOW 2B688	HT	P	Semidentado	AS 1565	HS	P	Semiduro
BM 1115	HS	P	Semiduro	PRE 3601	S/I	S/I	S/I
BM 2202	HD	P	Semidentado	BX 1382	HS	P	Semiduro
BM 810	HS	P	Semiduro	BX 1149	HS	P	Semiduro
BM 620	HT	SP	Semiduro	BR 205	HD	P	Semidentado
PL 6882	HT	P	Semidentado	BR 206	HD	P	Semidentado
P 30F53	HS	SP	Semiduro	BRS 1035	HS	P	Semidentado
P 30F36	HS	P	Semiduro	BRS 2020	HD	P	Semiduro
P 30P34	HT	P	Semiduro	SG 6418	HT	P	Duro
P 30R50	HS	P	Semiduro	XGN 5303	S/I	S/I	S/I
P 32R48	HS	SP	S/I	XGN 6211	S/I	S/I	S/I
SHS 5090	HT	P	Semiduro	XGN 6302	S/I	S/I	S/I
SHS 7070	HS	P	Duro	XGN 6311	S/I	S/I	S/I
SHS 7080	HS	P	Semiduro	XGN 7321	S/I	S/I	S/I
SHS 3031	V	P	Semiduro	XGN 7326	S/I	S/I	S/I

<sup>(1)</sup> HS = híbrido simples; HD = híbrido duplo; HT = híbrido triplo; V = variedade de polinização aberta.

<sup>(2)</sup> SP = Super precoce; P = precoce; HSm = híbrido simples modificado; N = normal. S/I = Sem informação.

Fonte: Embrapa, 2008.

necrosada (zero a 100%). Para avaliação do período de incubação, foi utilizada uma lupa de mão de 40x de aumento, iniciando-se 24 horas após a inoculação e finalizando no aparecimento das primeiras lesões nas plantas. As avaliações foram realizadas periodicamente de 12 em 12 horas.

O experimento foi realizado duas vezes de forma independente. Foram realizadas análises conjuntas dos

experimentos, uma vez que os quadrados médios residuais não ultrapassaram a relação aproximada de 2:1, conforme Banzatto & Kronka (1989).

Os valores de severidade determinados em cada cultivar foram reunidos em três grupos, pelo procedimento “FASTCLUS”, utilizando o método do “nearest centroid”, tendo como medida de dissimilaridade a distância eu-

clidiana, não efetuando a eliminação de nenhum “outlier”, aplicado conjuntamente aos dois experimentos. O grupo 1 consistiu de unidades amostrais com valores de severidade mais baixos, o grupo 2 com valores intermediários e o grupo 3 com valores elevados. A análise de agrupamento, também conhecida por análise “cluster”, tem como finalidade reunir, por algum critério de classificação, as unidades amostrais ►

em grupos de tal forma que exista homogeneidade dentro do grupo e heterogeneidade entre grupos (Liberato et al., 1995).

## Resultados e discussão

O uso da análise de agrupamento (FASTCLUS) para separar cultivares de milho quanto à resistência (severidade) foi apropriado. A análise de agrupamento por valor de severidade foi efetuada, dando origem a três grupos distintos. As cultivares enquadradas no grupo 1 foram consideradas como moderadamente suscetíveis à antracnose foliar (MS), as do grupo 2 como suscetíveis (S) e as do grupo 3 como altamente suscetíveis (AS) (Tabela 2).

As cultivares de milho no estágio de plântula diferiram quanto à severidade de antracnose foliar causada por *C. graminicola* (Tabela 1). Badu-Apraku et al. (1987), Carson & Hooker (1981a e b), Zuber et al. (1981) e Keller & Bergstrom (1988) também constataram diferenças no grau de suscetibilidade de cultivares e linhagens de milho quanto à reação à antracnose. Esses estudos indicam que a resistência à antracnose foliar é controlada por poucos (um a quatro)

genes dominantes. Pouco se sabe sobre os mecanismos de expressão desses genes de resistência. Entretanto, respostas bioquímicas e fisiológicas à infecção fúngica em milho são conhecidas. Geralmente a reação de resistência em folhas envolve estímulos à biossíntese de compostos fenólicos, especialmente fenilpropanoides (Bergstrom & Nicholson, 1999).

A antracnose foliar pode ser tão severa em genótipos suscetíveis a ponto de restringir seu crescimento normal, podendo resultar na morte de plântulas (Bergstrom & Nicholson, 1999), sendo mais evidente em plântulas e em plantas adultas após a antese (Badu-Apraku et al., 1987).

A resistência manifestada nas cultivares de milho avaliadas foi do tipo parcial (moderadamente suscetível) ao isolado testado. As cultivares DKB 566, AS 1567 e BM 2202 formaram o grupo 3. Elas apresentaram os maiores valores de severidade da doença, variando de 93,47% a 100% para o isolado testado, sendo consideradas altamente suscetíveis à mancha foliar de antracnose. Os genótipos AG 6018, AG 8021, AG 9020, BM 1115;

P 30F36, P 30P34, P 30R50, AS 1533, AS 1535, AS 1540, AS 1570, AS 1575, AS 3466, AS 1545, AS 1560, BX 1149, BR 205 e AG 8011 apresentaram valores de severidade da doença variando de 81,75% a 86,25% e formaram o grupo 2 para o isolado testado. Estas foram consideradas suscetíveis à mancha foliar de antracnose. As demais cultivares, grupo 1, apresentaram valores de severidade variando de 67,65% a 74,33%, sendo consideradas moderadamente suscetíveis à mancha foliar de antracnose, totalizando 70,42% das cultivares testadas. Não foi encontrado entre as cultivares estudadas, material resistente à mancha foliar de antracnose. Todas as cultivares apresentaram resistência parcial à doença. Resultados semelhantes foram obtidos por Badu-Apraku et al. (1987), Carson & Hooker (1981a e b), Zuber et al. (1981) e Keller & Bergstrom (1988). Eles também constataram diferenças no grau de suscetibilidade de cultivares e linhagens de milho à mancha foliar de antracnose.

Não houve diferença significativa quanto ao período de incubação (PI) entre as cultivares avaliadas neste

Tabela 2. Agrupamento de 72 genótipos de milho em relação à severidade manifestada ao isolado SC-01 de *C. graminicola* sob condições controladas. Chapecó, SC, 2008<sup>(1)</sup>

<b>Moderadamente suscetível (MS)</b> <b>(Grupo 1) Severidade baixa</b> <b>70,99 ± 3,34 desvio padrão</b>	DKB-789; DKB 2040; DKB 234; DKB 747; SCS155 Catarina; DOW 2870; SCS154 Fortuna; DOW 2B587; DOW 2B688; PL 6882; P 30F53; P32R48; SHS5090; SHS 7070; SHS 7080; AG 2020; AG 6020; AS 1548; AS 3430; AS 3477; SHS 3031; SHS 4050; SHS 4060; SHS 4070; SHS 4080; SHS 5050; SHS 5070; SHS 5080; PRE 3601; BX 1382; AS 32; BM 810; SHS 3035; AS 1565; BM 620; BR 206; BRS 1035; BRS 2020; SG 6418; AG 122; AG 2040; AG 2060; AG 5011; DBK 330; DKB 979; XGN 5303; XGN 6211; XGN 6302; XGN 6311; XGN 7321 e XGN 7326.
<b>Suscetível (S)</b> <b>(Grupo 2) Severidade média</b> <b>84,00 ± 2,25 desvio padrão</b>	AG 6018; AG 8021; AG 9020; BM 1115; P30F36; P30P34; P30R50; AS 1533; AS 1535; AS 1540; AS 1570; AS 1575; AS 3466; AS 1545; AS 1560; BX 1149; BR 205 e AG 8011.
<b>Altamente suscetível (AS)</b> <b>(Grupo 3) Severidade alta</b> <b>97,74 ± 2,26 desvio padrão</b>	DKB 566; AS 1567 e BM 2202

<sup>(1)</sup> Média de dois experimentos independentes.

experimento, mesmo considerando aquelas que apresentaram diferentes níveis de resistência. Os genótipos apresentaram média de 80,48 horas de PI, variando de 76,36 a 84,6 horas, diferindo do trabalho de Morello (2000), que constatou período de incubação de cerca de 10 dias, em ensaios realizados *in vitro*.

Várias cultivares foram avaliadas neste trabalho na busca de identificar aquelas com resistência em plantas jovens. Nenhuma das cultivares testadas se destacou como resistente, porém muitas apresentaram resultados promissores que podem ser utilizadas em futuros estudos e em programas de melhoramento de milho, buscando minimizar o efeito danoso da mancha foliar de antracnose.

Na busca do controle da mancha foliar de antracnose por meio da resistência genética é importante o acúmulo de informações quanto a fontes e tipos de resistência. Dessa forma, são importantes os trabalhos para identificar novas cultivares com diferentes níveis de resistência. Sugere-se o monitoramento da variabilidade do patógeno e da resistência de cultivares de milho visando evitar a quebra desta.

## Conclusões

Apesar da variabilidade quanto à resistência à antracnose foliar do milho, há predomínio de materiais moderadamente suscetíveis à antracnose foliar.

O período de incubação não serve como indicador de resistência de plântulas de milho à antracnose foliar.

1. BADU-APRAKU, B.; GRACEN, V.E.; BERGSTROM, G.C. Inheritance of resistance to anthracnose stalk rot and leaf blight in maize inbred derived from a temperate by tropical germplasm combination. *Maydica*, Bergamo, v.32, p.221-237, 1987.
2. BANZATTO, D.A.; KRONKA, S. do N. *Experimentação agrícola*. Jaboticabal, SP: Funep, 1989. p.213-228.
3. BARBOSA, M.P.M. *Variabilidade patogênica de Colletotrichum graminicola isolado de milho (Zea mays L.)* 2001. 112 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.
4. BERGSTROM, G.C.; NICHOLSON, R.L. The biology of corn anthracnose: knowledge to exploit for improved management. *Phytopathology*, St. Paul, v.83, p.596-608, 1999.
5. BRUGNAGO NETO, S. Milho. *Síntese anual da agricultura de Santa Catarina - 2005-2006*, Florianópolis, p.87-93, 2007. Disponível em: <[http://cepa.epagri.sc.gov.br:8080/cepa/Publicacoes/sintese\\_2007/Milho\\_2007.pdf](http://cepa.epagri.sc.gov.br:8080/cepa/Publicacoes/sintese_2007/Milho_2007.pdf)>. Acesso em: 7 out. 2008.
6. CALLAWAY, M.B.; SMITH, M.E.; COFFMAN, W.R. Effect of anthracnose stalk rot on grain yield and related traits of maize adapted to the northeastern United States. *Canadian Journal of Plant Science*, Ottawa, v.72, p.1031-1036, 1992.
7. CARSON, M.L.; HOOKER, A.L. Inheritance of resistance to stalk rot of corn caused by *Colletotrichum graminicola*. *Phytopathology*, St. Paul, v.71, p.1190-1196, 1981a.
8. CARSON, M.L.; HOOKER, A.L. Inheritance of resistance to anthracnose leaf blight in five inbred lines of corn. *Phytopathology*, St. Paul, v.71, p.488-491, 1981b.
9. CRUZ, J.C.; MONTEIRO, J.A.; SANTANA, D.P. et al. *Recomendações técnicas para a cultura do milho*. 2.ed. Brasília: Embrapa-SPI: Sete Lagoas: Embrapa-CNPMS, 1996. 204p. (Agricultura real: um prêmio à produtividade e qualidade).
10. EMBRAPA. *Milho - cultivares para 2008/2009: Características agrônomicas das cultivares de milho disponível no mercado na safra 2008/09*. Disponível em: <<http://www.cnpms.embrapa.br/milho/cultivares/index.php>>. Acesso em: 8 out. 2008.
11. FERNANDES, F.T.; BALMER, E. Situação das doenças de milho no Brasil. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v.14, n.165, p.37-40, 1990.
12. KELLER, N.P.; BERGSTROM, G.C. Developmental predisposition of maize to anthracnose stalk rot. *Plant Disease*, St. Paul, v.72, p.977-980, 1988.
13. LIBERATO, J.R.; CRUZ, C.D.; VALE, F.X.R. do et al. Técnicas estatísticas de análise multivariada aplicada à fitopatologia. Análise de componentes principais, análise canônica de "cluster análise". *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, Passo Fundo, v.3, p.227-281, 1995.
14. MORELLO, R.M.S.C. *Resistência em milho (Zea mays L.) a Colletotrichum graminicola (Ces.) Wils.* 2000. 94f. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP, 2000.
15. PERKINS, J.M.; HOOKER, A.L. Effects of anthracnose stalk rot on corn yields in Illinois. *Plant Disease Reporter*, Idaho, v.63, p.26-30, 1979.
16. RITCHIE, S.W.; HANWAY, J.J. *How a corn plant develops*. Ames. Iowa State University of Science and Technology Cooperative Extension Service, 1982. 21p. (Special Report, 48).
17. SILVA, H.P. *Herança da resistência à antracnose foliar em milho (Zea mays L.) e métodos de avaliação*. 1983. (Dissertação de Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1983.
18. SMITH, D.R. Yield reduction in dent corn caused by *Colletotrichum graminicola*. *Plant Disease Reporter*, v.60, p.967-970, 1976.
19. WHITE, D.G., YANNEY, J.; NATTI, T.A. Anthracnose stalk rot. In: ANNUAL CORN AND SORGHUM RESEARCH CONFERENCE, 34., 1979, Chicago. *Proceedings...* Washington: American Seed Trade Association, 1979. p.1-15.
20. ZUBER, M.S.; AINSWORTH, T.C.; BLANCO, M.H. et al. Effect of anthracnose leaf blight on stalk rind strength and yield in F<sub>1</sub> single crosses in maize. *Plant Disease*, St. Paul, v.65, p.719-722, 1981. ■