

Raças de *Colletotrichum graminicola* Patogênicas ao Milho no Brasil



ISSN 1679-0154
Dezembro, 2014

**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Milho e Sorgo
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 96

Raças de *Colletotrichum graminicola* Patogênicas ao Milho no Brasil

Rodrigo Vêras da Costa
Luciano Viana Cota
Dagma Dionísia da Silva
Douglas Ferreira Parreira
Carlos Roberto Casela
Elena Charlote Landau
José Edson Fontes Figueiredo

Embrapa Milho e Sorgo
Sete Lagoas, MG
2014

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Milho e Sorgo

Rod. MG 424 Km 45

Caixa Postal 151

CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG

Fone: (31) 3027-1100

Fax: (31) 3027-1188

Home page: www.cnpms.embrapa.br

E-mail: cnpms.sac@embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Sidney Netto Parentoni

Secretário-Executivo: Elena Charlotte Landau

Membros: Antonio Claudio da Silva Barros, Dagma Dionísia da

Silva, Maria Marta Pastina, Monica Matoso Campanha, Paulo

Eduardo de Aquino Ribeiro e Rosângela Lacerda de Castro

Revisão de texto: Antonio Claudio da Silva Barros

Normalização bibliográfica: Rosângela Lacerda de Castro

Tratamento de ilustrações: Tânia Mara Assunção Barbosa

Editoração eletrônica: Tânia Mara Assunção Barbosa

Foto(s) da capa: Rodrigo Veras da Costa

1ª edição

1ª impressão (2014): on line

Todos os direitos reservados

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Milho e Sorgo

Raças de *Colletotrichum graminicola* patogênicas ao milho no

Brasil / Rodrigo Véras da Costa ... [et al.]. -- Sete Lagoas :

Embrapa Milho e Sorgo, 2014.

31 p. : il. -- (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Milho e Sorgo, ISSN 1679-0154; 96).

1. Milho. 2. *Zea mays*. 3. Antracnose. 4. Doença de planta. I. Costa, Rodrigo Véras da. II. Série.

CDD 633.15 (21. ed.)

© Embrapa 2014

Sumário

Resumo	4
Abstract	6
Introdução	7
Material e Métodos	10
Resultados e Discussão	16
Conclusões	20
Agradecimentos	22
Referências	22

Raças de *Colletotrichum graminicola* Patogênicas ao Milho no Brasil

Rodrigo Vêras da Costa¹

Luciano Viana Cota²

Dagma Dionísia da Silva³

Douglas Ferreira Parreira⁴

Carlos Roberto Casela⁵

Elena Charlotte Landau⁶

José Edson Fontes Figueiredo⁷

Resumo

A antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wilson, é uma das doenças mais importantes do milho no Brasil, especialmente em sistema de plantio direto sem rotação de culturas. Neste sistema, os restos culturais de milho presentes na área elevam o potencial de inóculo desse fungo ao longo do tempo. O uso da resistência genética é a estratégia mais adequada e vantajosa para o controle da antracnose. No entanto, a eficácia e a durabilidade dessa prática dependem do conhecimento sobre a variabilidade genética de *C. graminicola*.

¹Engenheiro Agrônomo, D.Sc. em Fitopatologia, Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, rodrigo.veras@embrapa.br

²Engenheiro Agrônomo, D.Sc. em Fitopatologia, Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, luciano.cota@embrapa.br

³Engenheira Agrônoma, D.Sc. em Fitopatologia, Pesquisadora da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, dagma.silva@embrapa.br

⁴Engenheiro Agrônomo, Doutorando em Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa-UFV, Viçosa, MG, douglas2002ufv@yahoo.com.br

⁵Engenheiro Agrônomo, Ph.D. em Fitopatologia, Pesquisador aposentado da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, caselacarlos@hotmail.com

⁶Bióloga, D.Sc. em Zoneamento Ecológico - Econômico, Agroclimatologia e Geoprocessamento, Pesquisadora da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, charlotte.landau@embrapa.br

⁷Biólogo, D.Sc. em Genética Molecular, Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, jose.edson@embrapa.br

Neste estudo, 15 genótipos de milho foram inoculados com 190 isolados monospóricos de *C. graminicola* coletados de folhas infectadas de plantas de milho cultivadas em sete áreas ecogeográficas brasileiras. Foram identificadas cinco raças de *C. graminicola*, e onze genótipos de milho foram suscetíveis a todos os isolados. Os resultados indicaram que tanto o número de isolados do patógeno quanto o número de genótipos a serem testados são fundamentais para a identificação precisa de raças *C. graminicola*. Este é o primeiro estudo que mostra a ocorrência de raças de *C. graminicola* no Brasil.

Palavras-chave: Antracnose foliar, milho, *colletotrichum graminicola*, raças

Races of *Colletotrichum graminicola* pathogenic to corn in Brazil

*Rodrigo Véras da Costa*¹

*Luciano Viana Cota*²

*Dagma Dionísia da Silva*³

*Douglas Ferreira Parreira*⁴

*Carlos Roberto Casela*⁵

*Elena Charlotte Landau*⁶

*José Edson Fontes Figueiredo*⁷

Abstract

Anthracnose, caused by *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wilson, is one of the most important diseases of corn in Brazil, especially in no-till crop rotation system. In this system the corn crop residues present in the area raise the potential of this fungus inoculum over time. The use of genetic resistance is the most suitable and advantageous for anthracnose control strategy. However, the efficacy and durability of this practice depends on the knowledge of the genetic variability of *C. graminicola*. In this study, 15 genotypes were inoculated with 190 spore isolates of *C. graminicola* collected from infected leaves of corn plants grown in seven Brazilian ecogeographic areas. Five races of *C. graminicola* were identified, and eleven genotypes were susceptible to all isolates. The results indicated that both the number of isolates of the pathogen and the number of genotypes to be tested are essential for the accurate identification of *C. graminicola* races. This is the first study that shows the occurrence of races of *C. graminicola* in Brazil.

Keywords: leaf anthracnose, corn, *colletotrichum graminicola*, races

Introdução

A antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wilson, é uma das doenças mais importantes da cultura do milho (*Zea mays*), no Brasil (COTA et al., 2012), bem como em outras partes do mundo (PERKINS; HOOKER, 1979; PUIPAT; MEHTA, 1969; WARREN et al., 1973; LEONARD, 1974). O principal efeito desta doença é a redução no rendimento de grãos por causa da redução do peso deles e do tombamento das plantas (DODD, 1980). Embora a doença ocorra em todas as partes da planta, as folhas e o colmo são os mais afetados (BERGSTROM; NICHOLSON, 1999). Nas folhas, lesões necróticas de coloração amarelada, com diferentes formas, podem aparecer em qualquer fase durante o desenvolvimento das plantas e pode causar a redução de área fotossintética ativa (BERGSTROM; NICHOLSON, 1999). Nas nervuras, lesões elípticas com presença de acérvulos do patógeno são comuns. Durante infecções severas, a diminuição da área foliar fotossintética das plantas pode resultar na senescência precoce (JIRAK-PETERSON; ESKER, 2011). O sintoma de “Top dieback” ocorre em razão da morte prematura das folhas superiores e do colmo durante os estágios iniciais da formação de grãos, e também resulta em redução de rendimento (BERGSTROM; NICHOLSON, 1999). Lesões estreitas e elípticas na casca caracterizam a fase de podridão do colmo da doença, cuja coloração varia entre o marrom-escuro e o preto, com o desenvolvimento de acérvulos do patógeno. A casca e a medula do caule apresentam uma coloração marrom-escura a preta, e os tecidos da medula podem desintegrar-se, geralmente começando pelos entrenós inferiores, levando à seca prematura e ao acamamento das plantas (JIRAK-PETERSON; ESKER, 2011). Embora a principal fonte de inóculo para a antracnose do colmo

ainda não seja bem definida, vários estudos têm demonstrado que a infecção do colmo pode ocorrer diretamente por conídios produzidos nas lesões foliares, pela presença de inóculo nos restos de culturas, através de danos causados por insetos ou abrasões e ferimentos no colmo e sistema radicular (BERGSTROM; NICHOLSON, 1999; JIRAK-PETERSON; ESKER, 2011; LIPPS, 1983, 1985; MIMS; VAILLANCOURT, 2002; VENARD; VAILLANCOURT, 2007a,b; SUKNO et al., 2008; WHITE; HUMY, 1976). Alguns estudos relataram o crescimento da lesão no colmo por causa do movimento sistêmico de esporos do patógeno através dos tecidos vasculares (BERGSTROM; NICHOLSON, 1999; PANACCIONE et al., 1989; SUKNO et al., 2008). No entanto, Venard e Vaillancourt (2007a, 2007b), não encontraram evidência de que *C. graminicola* possa penetrar através das raízes e causar infecção sistêmica.

No Brasil, o milho é plantado em duas épocas distintas, com a primeira safra plantada no verão e safrinha plantada logo após a safra de verão. A expansão da área cultivada e a adoção do sistema de plantio direto, sem rotação de culturas, têm resultado no aumento da incidência e severidade da antracnose nos EUA (BERGSTROM; NICHOLSON, 1999; JIRAK; ESKER, 2009; JIRAK-PETERSON; ESKER, 2011; LIPPS, 1985) e Brasil (CASELA et al., 2006; COELHO et al., 2001; COSTA et al., 2010; COTA et al., 2012; CRUZ et al., 1996; FERNANDES; BALMER, 1990).

O uso da resistência genética é a estratégia mais eficiente e rentável para o controle da doença. Badu-Apraku et al. (1987a,b) encontraram um único gene dominante, designado CgL, controlando a resistência, tanto em plântulas quanto em plantas adultas e dois genes codominantes para a resistência

a antracnose foliar. Coelho et al. (2001) relataram uma herança monogênica e dominante para a resistência à antracnose. Rezende et al. (2004) observaram que a resistência à antracnose foliar em milho era controlada por um gene importante em todos os cruzamentos e ensaios e por poligenes em pelo menos um ensaio. Assim, a herança da resistência à antracnose em milho permanece controversa. Em um estudo, o papel dos efeitos aditivos foram as mais significativas para a resistência (CARSON; HOOKER, 1981), enquanto os efeitos aditivo, de dominância e epistáticos foram importantes em outro estudo (BADU-APRAKU et al., 1987b). No entanto, a eficácia e a durabilidade da resistência das plantas como estratégia para o controle da antracnose dependem do conhecimento sobre a variabilidade patogênica de *C. graminicola* em condições tropicais. Harris e Johnson (1967) foram os primeiros a sugerir a possível existência de raças fisiológicas de *C. graminicola* nos EUA. No entanto, o primeiro relatório de raças de desse fungo foi feita por Forgey et al. (1978), que identificaram oito raças fisiológicas a partir de 10 isolados patogênicos ao milho. No entanto, Nicholson e Warren (1981), utilizando sete desses 10 isolados utilizados por Forgey et al. (1978), concluíram que eles não produziram sintomas que permitissem uma diferenciação clara de raças. Outros autores também concluíram sobre a inexistência de raças neste patossistema (COELHO et al., 2001; BERGSTROM; NICHOLSON, 1999).

O gênero *Colletotrichum* apresenta uma grande plasticidade fenotípica gerando resultados conflitantes, muitas vezes difíceis de interpretar (CROUCH et al., 2009a,b,c; HYDE et al., 2009). Conseqüentemente, isso complica os esforços para compreender as relações de hospedeiros, diagnosticar a doença com precisão e o desenvolvimento de estratégias de controle

eficazes através da resistência genética (HYDE et al., 2009; TEBEEST et al., 1997).

Em *Colletotrichum sublineolum*, que está intimamente relacionada com *C. graminicola*, raças, patótipos e haplótipos têm sido amplamente identificados em muitos países ao longo dos últimos cinquenta anos (ALI; WARREN, 1987, 1992; CARDWELL et al, 1989; CASELA; FERREIRA, 1987; PASTOR-CORRALES; FREDERIKSEN, 1979; FERREIRA; CASELA, 1986; FREDERIKSEN; ROSENOW, 1971; HARRIS; JOHNSON, 1967; HARRIS; SOWELL, 1970; KING; FREDERIKSEN, 1976; NAKAMURA, 1982; NICHOLSON; WARREN, 1981; ROSEWICH et al., 1998; OZOLUA et al., 1986, PANDE et al., 1991; THOMAS et al., 1995). Embora seja razoável esperar que uma diversidade de raças semelhantes também possa ocorrer em *C. graminicola*, em razão da sua alta similaridade genética com *C. sublineolum*, a existência de raças em *C. graminicola* é incerta.

Neste trabalho, os resultados baseados em experimentos de casa de vegetação, relatam a identificação de raças de *C. graminicola* ocorrendo em diferentes regiões produtoras de milho no Brasil, e discutem alguns pontos chave para as estratégias de manejo e desenvolvimento da resistência genética contra essa doença.

Material e Métodos

Série Diferenciadora

Este trabalho foi realizado no laboratório de Fitopatologia e em casa de vegetação da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas - MG, Brasil. Quinze genótipos de milho foram utilizados como

hospedeiros diferenciais. Por causa da escassez de informação sobre a resistência do milho à antracnose foliar no Brasil, os 15 genótipos de milho foram selecionados com base na sua origem genética diversa e por serem plantados nas principais áreas de produção de milho. Os genótipos também foram escolhidos por apresentarem reações contrastantes para outras doenças foliares importantes como a cercosporiose, a mancha branca e a ferrugem polissora. Estes incluíram seis linhagens e cinco híbridos simples derivados dessas linhagens do programa de melhoramento da Embrapa Milho e Sorgo. Os demais genótipos incluídos foram: um híbrido simples da Pioneer, dois da Dow AgroSciences e um da Agroeste (Tabela 1).

Tabela 1. Genótipos de milho utilizados para o teste de virulência em a *C. graminicola* em casa de vegetação.

Número	Origem	Genótipo	Tipo	Ciclo
1	Embrapa	BRS1001	Híbrido simples	Precoce
2	Embrapa	BRS1010	Híbrido simples	Precoce
3	Embrapa	BRS1030	Híbrido simples	Precoce
4	Embrapa	BRS1031	Híbrido simples	Precoce
5	Embrapa	BRS1035	Híbrido simples	Precoce
6	Embrapa	L3	Linhagem	–
7	Embrapa	L2841	Linhagem	–
8	Embrapa	L2283	Linhagem	–
9	Embrapa	L112	Linhagem	–
10	Embrapa	L141	Linhagem	–
11	Embrapa	L182	Linhagem	–
12	Agroeste	AS1570	Híbrido simples	Precoce
13	Pioneer	30F35	Híbrido simples	Precoce
14	Dow agrosience	2B710	Híbrido simples	Precoce
15	Dow agrosience	2B587	Híbrido simples	Precoce

Coleção de Amostras, Produção e Manutenção de Isolados Monospóricos de *C. graminicola*

Um total de 190 isolados monospóricos de *C. graminicola* foi obtido a partir de 11 localidades (Uberlândia, Uberaba, Iraí de Minas e Sete Lagoas, em Minas Gerais; Jaguarão, Londrina e Ponta Grossa, no Paraná; Goianésia, Inhumas e Rio Verde, em Goiás, e Passo Fundo, no Rio Grande do Sul), as quais representam uma ampla distribuição geográfica do patógeno. Os isolados monospóricos foram obtidos a partir de fragmentos retirados das bordas das lesões. Estes fragmentos foram esterilizados superficialmente através da imersão por 2 minutos em hipoclorito de sódio a 0,5%. Os fragmentos de folha foram colocadas em meio de ágar e farinha de aveia (OMA) com tetraciclina e incubados sob luz fluorescente intermitente, a 25 ° C durante sete dias para induzir a esporulação. Posteriormente, as placas foram submersas com 10 ml de água destilada estéril e raspadas com um pincel para remover os conídios. Para cada amostra procedeu-se uma diluição em série para obtenção de suspensões de esporos em uma concentração entre 50 a 100 conídios por mililitro. Uma alíquota de 1 ml foi transferida para uma placa de Petri contendo ágar a 2%, a qual foi incubada em câmaras de crescimento, sob luz fluorescente intermitente a 25 ° C durante 12 h para a germinação de esporos. Um único conídio foi transferido para tubos de ensaio contendo meio OMA e, depois o desenvolvimento dos fungos, as culturas foram submersas com 10 ml de óleo mineral estéril para manutenção.

Produção de Inóculo

Para a produção de inóculo, uma alíquota de cada cultura foi espalhada sobre meio OMA e incubadas durante 7 dias a 25

°C sob luz fluorescente contínua para induzir a esporulação. Depois disso, as placas individuais foram submersas com 10 ml de água estéril, e raspado superficialmente para remover os conídios. As suspensões de esporos foram filtradas através de uma dupla camada de gaze e a sua concentração foi ajustada a 10^6 esporos por ml.

Inoculação

Cada genótipo (Tabela 1) foi plantado em quatro vasos com três plantas em cada. A suspensão de esporos foi aplicada (10 ml por vaso) em ambas as superfícies das folhas de plantas na fase vegetativa, aos 21 dias após o plantio, até o ponto de escorrimento, utilizando-se um pulverizador manual. Após a inoculação, as plantas foram incubadas durante 18 horas em câmara úmida escura a 100% de umidade relativa e temperatura controlada ajustada para 27 °C (± 2 °C). Depois disso, os vasos foram distribuídos aleatoriamente em estufa com temperaturas ajustadas para 27 °C (± 2 °C), e os tipos de reação à antracnose foram avaliados 15 dias após a inoculação. A fim de reduzir o risco de escapes, os genótipos de milho que apresentaram reação de resistência foram re-inoculados.

Avaliação

Os critérios de tipos de lesão utilizados por Nicholson e Warren (1976), os parâmetros de severidade da doença (CARDWELL et al., 1989) e a presença ou ausência de esporos nas lesões (CASELA; FERREIRA, 1987) foram considerados para a avaliação. As avaliações do grau de resistência ou susceptibilidade foram realizadas 15 dias após a inoculação, usando notas de 1 a 5, como se segue: 1, ausência de sintomas;

2, presença de um pequeno número de lesões alongadas sem esporulação, ou reação de hipersensibilidade (infecção ligeira); 3, presença de lesões alongadas sem esporulação, ou lesões de reação de hipersensibilidade; 4, infecção grave com lesões apresentando intensa esporulação; 5, infecção muito grave, com lesões esporuladas e coalescência, mais de 40% da área foliar afetada e esporulação abundante. As notas 1, 2 e 3 foram consideradas como indicativo de resistência e as notas 4 e 5 como indicativo de suscetibilidade (Tabela 2). Um índice de virulência (VI) foi determinado com base no número de genótipos susceptíveis em relação a cada raça de *C. graminicola*.

Tabela 2. Escala descritiva utilizada para avaliar a reação de genótipos de milho à antracnose foliar em casa de vegetação.

Nota	Reação	Tipo de lesão
1	Resistência / Hipersensibilidade	Pequenas pontuações cloróticas (fleck's), possivelmente apresentando tecido necrótico, não circundado por área descolorida. Ausência de esporulação.
2	Resistência	Lesões de formato circular a irregular, de coloração palha a marrom, frequentemente circundadas por um halo clorótico ou amarelado. Ausência de esporulação. Menos de 5% de severidade.
3	Resistência	Lesões de formato circular a irregular, de coloração palha a marrom, frequentemente circundada por um halo clorótico ou amarelado. Ausência de esporulação. Máximo de 20% de severidade.
4	Suscetível	Lesões predominantemente com formato oval, de coloração cinza-esverdeado em ambas as superfícies das folhas, e presença de anéis concêntricos. Presença de esporulação. Severidade: 21 a 40%
5	Suscetível	Lesões predominantemente com formato oval, de coloração cinza-esverdeado em ambas as superfícies das folhas, e presença de anéis concêntricos. Presença de esporulação. Severidade: mais de 40%

Resultados e Discussão

Houve uma clara reação de resistência vertical com interações patógeno-hospedeiras diferenciais entre os 190 isolados de *C. graminicola* e os 15 genótipos de milho em casa de vegetação (Figura 1 e Figura 2). Cinco raças diferentes de *C. graminicola* foram identificadas e designadas como Cg1 a CG5 (Tabela 3). As raças CG1 e CG2 são amplamente disseminadas nas regiões de cultivo de milho, caracterizadas por diferentes climas, enquanto as raças CG3, CG4, e CG5 estão restritas a um determinado ambiente (Figura 3).



Figura 1. Reação de dois genótipos de milho inoculados com a raça Cg2 de *C. graminicola*. A) Genótipo resistente (2B710) e susceptível (L3); B) Reação de resistência vertical no genótipo 2B710; C) Reação de susceptibilidade na linhagem L3.



Figura 2. Reação do genótipo 2B710 inoculado com as raças Cg1 (direita) e Cg2 (esquerda) de *C. graminicola*. A) Reação de resistência (à esquerda) e suscetibilidade (direita). B) Folha planta de milho resistente à raça CG2, e C) Suscetíveis à raça Cg1.

Tabela 3. Designação de raças *C. graminicola* com base em diferentes reações de 15 genótipos de milho.

Raças	N.º de isolados	Serie Diferenciadora														Índice de Virulência (%)	
		2B587	2B710	30F35	AS 1570	BRS 1001	BRS 1010	BRS 1030	BRS 1031	BRS 1035	L 112	L 141	L 182	L 2283	L 2841		L 3
Cg1	154	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	100,0
Cg2	27	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	93,3
Cg3	4	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	93,3
Cg4	3	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	86,7
Cg5	2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	93,3

O índice de virulência (VI) em genótipos do hospedeiro foi alta para todas as raças de *C. graminicola* e variou entre 86,7 e 100%, indicando que os isolados foram virulentos a muitos genótipos da serie diferenciadora. O VI foi de 100% para a raça Cg1, 93,3% para as raças CG2, CG3, e CG5, e para a raça CG4, o valor foi de 86,7%. Estes valores de VI correspondem a avirulência a zero, um e dois dos quinze genótipos da serie diferenciadora, respectivamente.

Considerando que 11 dos 15 genótipos foram considerados susceptíveis, a diferenciação das raças pela série diferenciadora foi baseada num subconjunto de quatro genótipos (Tabela 3). Três raças (CG2, CG3 e CG5) foram avirulentas a um genótipo, enquanto uma raça (CG4) foi avirulenta a dois genótipos. A raça Cg1, que mostrou a prevalência mais ampla, foi virulenta a todos os quinze genótipos da serie diferenciadora (Tabela 4).

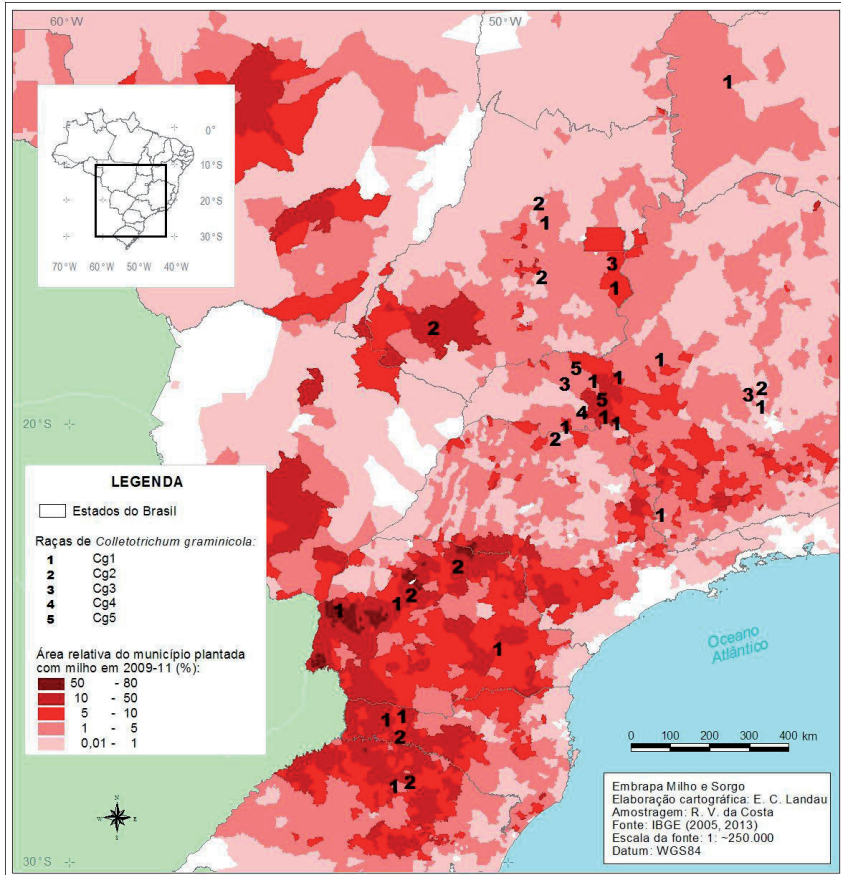


Figura 3. Distribuição das cinco raças de *C. graminicola* nas principais regiões produtoras de milho no Brasil.

Tabela 4. Número de isolados, virulência e avirulência de *C. graminicola* a genótipos de milho e frequência de raças identificadas com base na reação dos 15 genótipos de milho.

Raças	Nº. de Isolados	Virulento	Avirulento	Frequência (%)
Cg1	154	Todos	-----	81,0
Cg2	27	-	2B710	14,2
Cg3	4	-	30F35	2,1
Cg4	3	-	2B710 and L 141	1,6
Cg5	2	-	L 141	1,1

Os genótipos de milho BRS1001, BRS1010, BRS1030, BRS1031, BRS1035, L3, L2841, L2283, L182, AS1570 e 2B587 foram suscetíveis a todos os 190 isolados, enquanto os genótipos 2B710, 30F35 e L141 apresentaram frequências de resistência de 19,5%, 3,3% e 3,3%, respectivamente. Considerando-se apenas as médias das notas de susceptibilidade (graus acima de 3 na escala de avaliação) para todos os isolados, a severidade da doença foi menor nos genótipos 2B710 e L182 (média de 3,7), indicando um maior nível de resistência horizontal. Observou-se o nível mais alto de severidade da doença na linhagem L3 (4,3), seguido pelos híbridos BRS1001, BRS1010, BRS1030, BRS1031, e BRS1035, todos os quais têm a L3 como um dos seus progenitores. O resultado indica a presença de um gene dominante para a susceptibilidade para a antracnose foliar nesta linhagem.

Conclusões

Os resultados indicam a existência de pelo menos cinco diferentes raças de *C. graminicola* associadas à antracnose

foliar do milho no Brasil. Mais de 95% dos isolados de *C. graminicola* são representados por apenas duas raças (CG1 e CG2) e as outras três raças apresentaram frequências iguais ou inferiores a 2,1%. Assim, a utilização de um grande número de isolados é um elemento essencial para o sucesso na detecção de raças de *C. graminicola* no Brasil.

Embora estudos para demonstrar a existência de raças de *C. graminicola* sejam escassos e controversos, em *C. sublineolum* muitas raças fisiológicas, patótipos e haplótipos foram identificados ao longo dos anos (HARRIS; JOHNSON, 1967; HARRIS; SOWELL, 1970; FREDERIKSEN; ROSENOW, 1971; KING; FREDERIKSEN, 1976; PASTOR-CORRALES; FREDERIKSEN, 1979; ALI; WARREN, 1987, 1992; NAKAMURA, 1982; CASELA; FERREIRA, 1987). A patogenicidade de *C. sublineolum* é altamente variável dentro da população e mudanças nos padrões de virulência de populações de *C. sublineolum* foram relatados em várias partes do mundo (CARDWELL et al., 1989; CASELA et al., 1996; HARRIS; JOHNSON, 1967) e várias raças fisiológicas têm sido identificadas (CASELA; FERREIRA, 1987; COSTA et al., 2010; MARLEY et al., 2001; MATHUR et al., 2008; MOORE et al., 2008; PANDE et al., 1991; THAKUR et al., 2008; VALÉRIO et al., 2005).

Neste estudo, quatro genótipos de milho (2B710, 30F35, L112, e L114) permitiram a identificação de cinco raças de *C. graminicola* (Tabela 3). Estes genótipos são candidatos como fontes de resistência à antracnose em programas de melhoramento de milho e para integrar séries diferenciais em futuros estudos sobre a variabilidade de *C. graminicola*. Até o momento, poucas raças de *C. graminicola* (HARRIS; JOHNSON, 1967; FORGEY et al., 1978), ou até mesmo a sua existência

(COELHO et al., 2001; BERGSTROM; NICHOLSON, 1999; NICHOLSON; WARREN, 1981), têm sido identificadas. Neste trabalho, foram identificadas cinco raças de *C. graminicola*, e uma raça (GC1) foi predominante em quase todas as grandes áreas de cultivo de milho no Brasil. Estes resultados indicam que o uso de genes de resistência é uma ferramenta importante para as estratégias de manejo contra essa importante doença da cultura do milho.

Agradecimentos

Esse trabalho foi financiado pela Embrapa.

Referências

ALI, M. E. K.; WARREN, H. L. Physiological races of *Colletotrichum graminicola* on sorghum. **Plant Disease**, St. Paul, v. 71, p. 402-404, 1987.

ALI, M. E. K.; WARREN, H. L. Anthracnose of sorghum. In: MILLIANO, W. A. J.;

Frederiksen, R. K.; Bengston, G. D. (Ed.). **Sorghum and millets diseases: a second**

world review. Patancheru: ICRISAT, 1992. p. 203-208.

BADU-APRAKU, B.; GRACEN, V. E.; BERGSTRON, G. C. A major gene for resistance to anthracnose leaf blight in maize. **Plant Breeding**, Berlin, v. 98, p. 194-199, 1987a.

BADU-APRAKU, B.; GRACEN, V. E.; BERGSTRON, 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, 1987b.

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.

CARDWELL, K. F.; HEPPELRY, P. R.; FREDERIKSEN, R. A. Pathotypes of *Colletotrichum graminicola* and seed transmission of sorghum anthracnose. **Plant**

Disease, St. Paul, v. 73, p. 255-257, 1989.

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, 1981.

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

CASELA, C. R.; FERREIRA, A. S.; BRANCAO, N. Variabilidade e estrutura de virulência em *Colletotrichum graminicola* em sorgo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 3, p. 357-361, 1996.

CASELA, C.R.; FERREIRA, A.S. Proposta de um sistema de classificação de raças de *Colletotrichum graminicola*

agente causal da antracnose em sorgo (*Sorghum bicolor*).

Fitopatologia Brasileira, Brasília, v. 12, n. 4, p. 337-344, dez. 1987.

COELHO, R. M. S.; SILVA, H. P.; BRUNELLI, K. R.; CAMARGO, L. E. A. Controle genético da antracnose foliar em milho.

Fitopatologia Brasileira, Brasília, v. 26, p. 640-643, 2001.

COSTA, R. V.; SILVA, D. D.; COTA, L. V.; PARREIRA, D. F.; FERREIRA, A. S.; CASELA, C. R. Incidência de *Colletotrichum graminicola* em colmos de genótipos de milho. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 36, p. 122-128, 2010.

COTA, L. V.; COSTA, R. V.; SILVA, D. D.; CASELA, C. R.; PARREIRA, D. F. Quantification of yield losses due to anthracnose stalk rot on corn in brazilian conditions. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 160, p. 680-684, 2012.

CROUCH, J. A.; BEIRN, L. A.; CORTESE, L. M.; BONOS, S. A.; CLARKE, B. B. Anthracnose disease of switchgrass caused by the novel fungal species *Colletotrichum navitas*. **Mycological Research**, Cambridge, v. 113, p. 1411-1421, 2009a.

CROUCH, J. A.; CLARKE, B. B.; HILLMAN, B. I. What is the value of ITS sequence data in *Colletotrichum* systematics and species diagnosis? A case study using the falcate-spored graminicolous *Colletotrichum* group. **Mycologia**, New York, v. 101, p. 648-656, 2009b.

CROUCH, J. A.; CLARKE, B. B.; WHITE, J. F.; HILLMAN, B. I. Systematic analysis of the falcate-spored graminicolous *Colletotrichum* and a description of six new species from warm-season grasses. **Mycologia**, New York, v. 101, p. 717-732, 2009c.

CRUZ, J. C.; MONTEIRO, J. de A.; SANTANA, D. P.; GARCIA, J. C.; BAHIA, F. G. F.T. de C.; SANS, L. M. A.; PEREIRA FILHO, I. A. P. (Ed.). **Recomendações técnicas para o cultivo do milho**. 2. ed. Brasília, DF: Embrapa-SPI; Sete Lagoas: Embrapa-CNPMS, 1996. 204 p.

DODD, J. L. The role of plant stresses in development of corn stalk rots. Plant Disease, St. Paul, v. 64, p. 533-537, 1980.

FERNANDES, F.T.; BALMER, E. Situação das doenças de milho no Brasil. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 14, p. 35-37, 1990.

FERREIRA, A. S.; CASELA, C. R. Pathogenic races of *Colletotrichum graminicola*,

causal agent of sorghum (*Sorghum bicolor*) anthracnose.

Fitopatologia Brasileira, Brasília, v. 11, p. 83- 87, 1986.

FORGEY, W. M.; BLANCO, M. H.; LOEGERING, W. Q. Differences in pathological capabilities and host specificity of *Colletotrichum graminicola* on *Zea mays*. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, v. 62, p. 573-576, 1978.

FREDERIKSEN, R. A.; ROSENOW, D.T. Disease resistance in sorghum. In: ANNUAL CORN AND SORGHUM RESEARCH CONFERENCE, 26., 1971. **Proceedings...** Washington: American Seed Trade Association, 1971. p. 71-82.

HARRIS, H. B.; JOHNSON, J. B. Sorghum anthracnose symptoms, importance and resistance. In: BIENNIAL GRAIN SORGHUM RESEARCH AND UTILISATION CONFERENCE,

5.; SORGHUM IMPROVEMENT CONFERENCE OF NORTH AMERICA, 1967. **Proceedings...** [S.l.: s.n.], 1967. p. 48-52.

HARRIS, H. B.; SOWELL, G. J. Incidence of *Colletotrichum graminicola* on sorghum bicolor introductions. **Plant Disease Reporter**, St. Paul, v. 54, p. 60-62, 1970.

HOOKER, A. L.; WHITE, D. G. Prevalence of corn stalk rot fungi in Illinois. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, v. 60, p. 1032-1034, 1976.

HYDE, K. D.; CAI, L.; MCKENZIE, E. H. C.; YANG, Y. L.; ZHANG, J. Z.; PRIHASTUTI, H. *Colletotrichum*: a catalogue of confusion. **Fungal Divers**, v. 39, 1-17, 2009.

JIRAK, J. C.; ESKER, P. D. Correlation between anthracnose leaf blight and

anthracnose stalk rot as affected by corn residue level.

Phytopathology, St. Paul, v. 99, p. S59, 2009.

JIRAK-PETERSON, J. C.; ESKER, P.D. Tillage, crop rotation, and hybrid effects on residue and corn anthracnose occurrence in Wisconsin. **Plant Disease**, St. Paul, v. 95, p. 601-610, 2011.

KING, S. B.; FREDERIKSEN, R. A. Report on the international sorghum anthracnose

virulence nursery. **Sorghum New**, n. 19, p. 105-106, 1976.

LEONARD, K. L. Foliar pathogens of corn in North Caroline. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, v. 27, p. 70-73, 1974.

LIPPS, P. E. Influence of inoculum from buried and surface corn residues on the

incidence of corn anthracnose. **Phytopathology**, St. Paul, v. 75, p. 1212-1216, 1985.

LIPPS, P. E. Survival of *Colletotrichum graminicola* in infested corn residues in

Ohio. **Plant Disease**, St. Paul, v. 67, p. 102-104, 1983.

MARLEY, P. S.; THAKUR, R. P.; AJAYI, O. Variation among foliar isolates of *Colletotrichum sublineolum* of sorghum in Nigeria. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 69, p. 133-142, 2001.

MATHUR, K.; THAKUR, R. P.; NEYA, A.; MARLEY, P. S.; CASELA, C. R.; ROSEWICH, L. U. Sorghum anthracnose: problem and management strategies. In: LESLIE, J. F. (Ed.). **Sorghum, diseases, millets**. Guanajuato: John Wiley and Sons, 2008. p. 211-220.

MIMS, C. W.; VAILLANCOURT, L. J. Ultrastructural characterization of infection and colonization of maize leaves by *Colletotrichum graminicola*, and by a *C. graminicola* pathogenicity mutant. **Phytopathology**, St. Paul, v. 92, p. 803-812, 2002.

MOORE, J. W.; DITMORE, M.; TEBEEST, D. O. Pathotypes of *Colletotrichum sublineolum* in Arkansas. **Plant Disease**, St. Paul, v. 92, p. 1415-1420, 2008.

MIMS, C. W.; VAILLANCOURT, L. J. Ultrastructural characterization of infection and colonization of maize leaves by *Colletotrichum graminicola*, and by a *C. graminicola* pathogenicity mutant. **Phytopathology**, St. Paul, v. 92, p. 803-812, 2002.

NAKAMURA, K. **Especialização fisiológica em *Colletotrichum graminicola* (CES). (Wils) senso (Arx.)**. 1982. 147 p. Tese (Livre Docência em Fitopatologia) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1982.

NICHOLSON, R. L.; WARREN, H. L. Criteria for evaluation of resistance to maize anthracnose. **Phytopathology**, St. Paul, v. 66, p. 86-90, 1976.

NICHOLSON, R. L.; WARREN, H. L. The issue of races of *Colletotrichum graminicola* pathogenic to corn. **Plant Disease**, St. Paul, v. 65, p. 143-145, 1981.

OZOLUA, K. O. O.; TYAGI, P. D.; EMECHEBE, A. A. Pathogenic variation in *Colletotrichum graminicola*, the causal agent of anthracnose of sorghum in Nigeria. **Samaru Journal of Agricultural Research**, v. 4, p. 79-84, 1986.

PANACCIONE, D. G.; VAILLANCOURT, L. J.; HANAU, R. M. Conidial dimorphism in *Colletotrichum graminicola*. **Mycologia**, New York, v. 81, p. 876-883, 1989.

PANDE, S.; MUGHOGHO, L. K.; BANDYOPADHYAY, R.; KARUNAKAR, R. I. Variation in pathogenicity and cultural characteristics of sorghum isolates of *Colletotrichum*

graminicola in India. **Plant Disease**, St. Paul, v. 75, p. 778-783, 1991.

PASTOR-CORRALES, D.; FREDERIKSEN, R. A. Sorghum reaction to anthracnose in the United States, Guatemala, and Brazil. **Sorghum New**, n. 22, p. 127-128, 1979.

PERKINS, J. M.; HOOKER, A. L. The effects of anthracnose stalk rot on corn yields in Illinois. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, v. 63, p. 26-30, 1979.

PUPIPAT, U.; METHTA, Y. R. Stalk rot of maize caused by *Colletotrichum graminicola*. **Indian Phytopathology**, New Delhi, v. 22, p. 246-348, 1969.

REZENDE, V. F.; VENCOVSKY, R.; CÁRDENAS, F. E. N.; SILVA, H. P.; BEARZOTI, E.; CAMARGO, L. E. A. Mixed inheritance model for resistance to anthracnose leaf blight in maize. **Crop Breeding Applied Biotechnology**, Londrina, v. 4, p. 115-122, 2004.

ROSEWICH, U. L.; PETTWAY, R. E.; McDONALD, B. A.; DUNCAN, R. R.; FREDERIKSEN, R. A. Genetic structure and temporal dynamics of a *Colletotrichum graminicola* population in a sorghum disease nursery. **Phytopathology**, St. Paul, v. 88, p. 1087- 1093, 1998.

SUKNO, S. A.; GARCIA, V. M.; SHAW, B. D.; THON, M. R. Root infection and systemic colonization of maize by *Colletotrichum graminicola*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 74, p. 823-832, 2008.

THAKUR, R. P.; RAO, V. P.; SHARMA, R. Characterization of grain mold resistant sorghum germplasm accessions for physio-morphological traits. **Journal of SAT Agricultural Research**, v. 6, p. 1-7, 2008.

TEBEEST, D. O.; CORRELL, J. C.; WEIDEMANN, G. J. Specification and population biology in *Colletotrichum*. In: ESSER, K.; LEMKE, P. A. (Ed.). **The mycota V, Part B**. Heidelberg: Springer-Verlag, 1997. p. 157-168.

THOMAS, M. D.; SISSOKO, I.; SACKO, M. Development of leaf anthracnose and its effect in yield and grain weight of sorghum in West Africa. **Plant Disease**, St. Paul, v. 79, p. 151-153, 1995.

VALÉRIO, H. M.; RESENDE, M. A.; WEIKERT-OLIVEIRA, R. C. B.; CASELA, C. R. Virulence and molecular diversity in *colletotrichum graminicola* from Brazil. **Mycopathologia**, The Hague, v. 159, n. 3, p. 449-459, 2005.

VENARD, C.; VAILLANCOURT, L. Penetration and colonization of unwounded maize tissues by the maize anthracnose pathogen *Colletotrichum graminicola* and the related non pathogen *C. sublineolum*. **Mycologia**, New York, v. 99, p. 368-377, 2007a.

VENARD, C.; VAILLANCOURT, L. Colonization of fiber cells by *Colletotrichum graminicola* in wounded maize stalks. **Phytopathology**, St. Paul, v. 97, p. 438-447, 2007b.

WARREN, H. L.; NICHOLSON, R. L.; ULLSTRUP, A. J.; SHARVELLE, E. G. Observations of *Colletotrichum graminicola*

on sweet corn in Indiana. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, v. 57, p. 143-144, 1973.

WHITE, D. G.; HUMY, C. Methods for inoculation of corn stalks with *Colletotrichum graminicola* on corn. **Plant Disease Reporter**, St. Paul, v. 60, p. 898-899, 1976.



Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento

