

Agressividade do patógeno *Phaeocystroma ambiguum* causando podridão de colmo em milho.

João Paulo Dale Costa e Silva¹, Frederick Mendes Aguiar², Luciano Viana Cota³,
Dagma Dionísia da Silva³, Felipe Almeida⁴

¹Estudante Engenharia Agrônômica Universidade Federal de São João del-Rei, Sete Lagoas, Minas Gerais; ²Pós-doutorando em Fitopatologia, Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, Minas Gerais; frederick.aguiar@colaborador.embrapa.br e briciolanza@gmail.com; ³Pesquisador(a), Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, Minas Gerais, dagma.silva@embrapa.br e luciano.cota@embrapa.br; ⁴Graduando em Engenharia Ambiental, Faculdades Santo Agostinho/ FASASETE, Sete Lagoas, Minas Gerais;

Introdução

O milho tem grande importância mundial por causa da sua função alimentar humana e animal. Cerca de 70% da produção de milho destina-se à alimentação de animais, principalmente nas cadeias produtivas de aves e suínos (MARCONDES, 2012). Os EUA lideram a produção (361 milhões de toneladas), seguidos da China (215,6 milhões de toneladas), e em terceiro lugar está o Brasil, com 85 milhões de toneladas (AGRIANUAL, 2016). Apesar da grande extensão territorial do país, a produtividade média do Brasil (5.414 Kg/ha) é considerada baixa em relação aos principais produtores mundiais. Esse fato está relacionado com vários fatores, com destaque para as doenças (REIS et al., 2004).

Dentre as doenças que afetam a cultura do milho, destacam-se as podridões de colmo, que em situações de ataques severos causam perdas na produtividade e na qualidade dos grãos e forragens (COSTA et al., 2008). As podridões de colmo apresentam estreita relação com a ocorrência de vários tipos de estresse durante o ciclo da cultura, os quais promovem alterações no balanço normal de distribuição de carboidratos na planta. Na fase de enchimento de grãos, as espigas tornam-se os drenos mais fortes de energia na planta, pela grande demanda por açúcares e outros carboidratos. Portanto, o aparato fotossintético nesse período deve funcionar plenamente para manter o adequado suprimento de açúcares para o enchimento dos grãos e para a manutenção dos tecidos do colmo e das raízes (COSTA et al., 2008). Normalmente as infecções iniciam-se pelas raízes ou diretamente pelo colmo através de ferimentos. As perdas causadas pela podridão de colmo do milho ocorrem pela redução na absorção de água e nutrientes, bem como pelo tombamento das plantas, o que dificulta a colheita mecânica e expõe as espigas à ação de roedores e ao apodrecimento (COSTA et al., 2008).

Os principais agentes causadores de podridão de colmo identificados no Brasil são: *Colletotrichum graminicola*, *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium graminearum*, *F. verticillioides* (Sin. *F. moniliforme*) e *Stenocarpella maydis*. Porém, um novo patógeno foi relatado como causador de podridão de colmo do milho no Brasil (AGUIAR et al., 2016). Identificado como *Phaeocystroma ambiguum*, também tem sido relatado como causador de podridões de colmo de milho em outros lugares como América do Norte, Austrália, Bulgária, França, Tanzânia e África do Sul. O patógeno apresenta, inicialmente, colônias com crescimento micelial moderadamente rápido, de cor branca, cujas características podem ser confundidas com colônias do gênero *Stenocarpella*. No

entanto, após duas semanas de incubação, o fungo *P. ambiguum* apresenta numerosos picnídios de formato irregular, inicialmente solitários, multilocular com um a vários “pescoços” de coloração preta imersos no meio de cultura farinha de aveia-ágar (FAA). Os alfaconídios apresentam coloração marrom-claro, liso, elipsoide para piriforme, mais largo no meio da estrutura, vértice sem corte arredondado, base truncada, variando de 10-19 µm de comprimento e de 4-6 µm de largura (n = 50). Por ser um patógeno cuja descrição foi feita apenas recentemente, ainda são poucos os estudos a respeito da agressividade de *P. ambiguum* em relação a outros patógenos associados à podridão de colmo do milho no Brasil. O objetivo deste trabalho foi avaliar a agressividade de *P. ambiguum* comparando com *Fusarium graminearum*, *F. verticillioides*, *Colletotrichum graminicola* e *Stenocarpella maydis* em colmos de milho.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Fitopatologia e em casa de vegetação, ambos na Embrapa Milho e Sorgo. Os isolados oriundos de amostras de plantas de milho de oito regiões do país, devidamente preservados na coleção de fungos do laboratório de fitopatologia, foram multiplicados para obtenção das colônias e produção dos inóculos utilizados nos experimentos. Cada espécie foi repicada em épocas diferentes para placas de Petri contendo meio de cultura farinha de aveia-ágar (FAA), respeitando o ciclo de esporulação (de 5 a 15 dias) de cada uma delas. A repicagem foi executada de modo que todos os fungos esporulassem na mesma data. Para a extração dos esporos foram feitas raspagens, usando ± 40mL de água e lâminas de vidro autoclavadas. Em seguida, a solução de esporos foi filtrada utilizando gaze estéril e béqueres, e a calibração da concentração da solução foi feita na câmara de Neubauer e a solução de esporos ajustada para 10^6 conídios mL⁻¹ para todos os isolados testados.

Para as inoculações em casa de vegetação, foram utilizadas duas cultivares de milho, DKB390PRO e a P30F53YH, as quais foram plantadas em vasos de 14,5 L de solo. As plantas de milho na fase de pré-pendoamento foram inoculadas no terceiro entrenó, previamente desinfestado com álcool 70%, utilizando palitos de dente previamente esterilizados e mergulhados na solução de esporos do patógeno. Três plantas perfuradas apenas com palito estéril foram utilizadas como testemunha, e a avaliação foi realizada aos 30 dias após a inoculação. A percentagem (%) de entrenós com sintomas da doença foi obtida por meio da escala diagramática proposta por Nicoli et al. (2015). O reisolamento e a identificação de cada fungo foram realizados a partir dos colmos inoculados.

O delineamento experimental foi em blocos casualizados com três repetições, sendo cada parcela constituída de um vaso com 2 plantas. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias, comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade por meio do programa Sisvar (FERREIRA, 2011).

Resultados e Discussão

Todos os isolados testados no presente estudo foram patogênicos e causaram lesões que comprometeram o desenvolvimento da planta e conseqüentemente a sua produtividade (Figura 1). O fungo *P. ambiguum* foi agressivo, pois apresentou mais de 50% da área dos entrenós lesionados, se assemelhando aos outros fungos testados, conhecidos como causadores de podridão de colmo (Figura 2). Houve diferença entre os dois isolados de *P. ambiguum* provavelmente devido a variabilidade genética presente nas diferentes populações e locais onde os isolados foram obtidos (Figura 2 e Tabela 1).

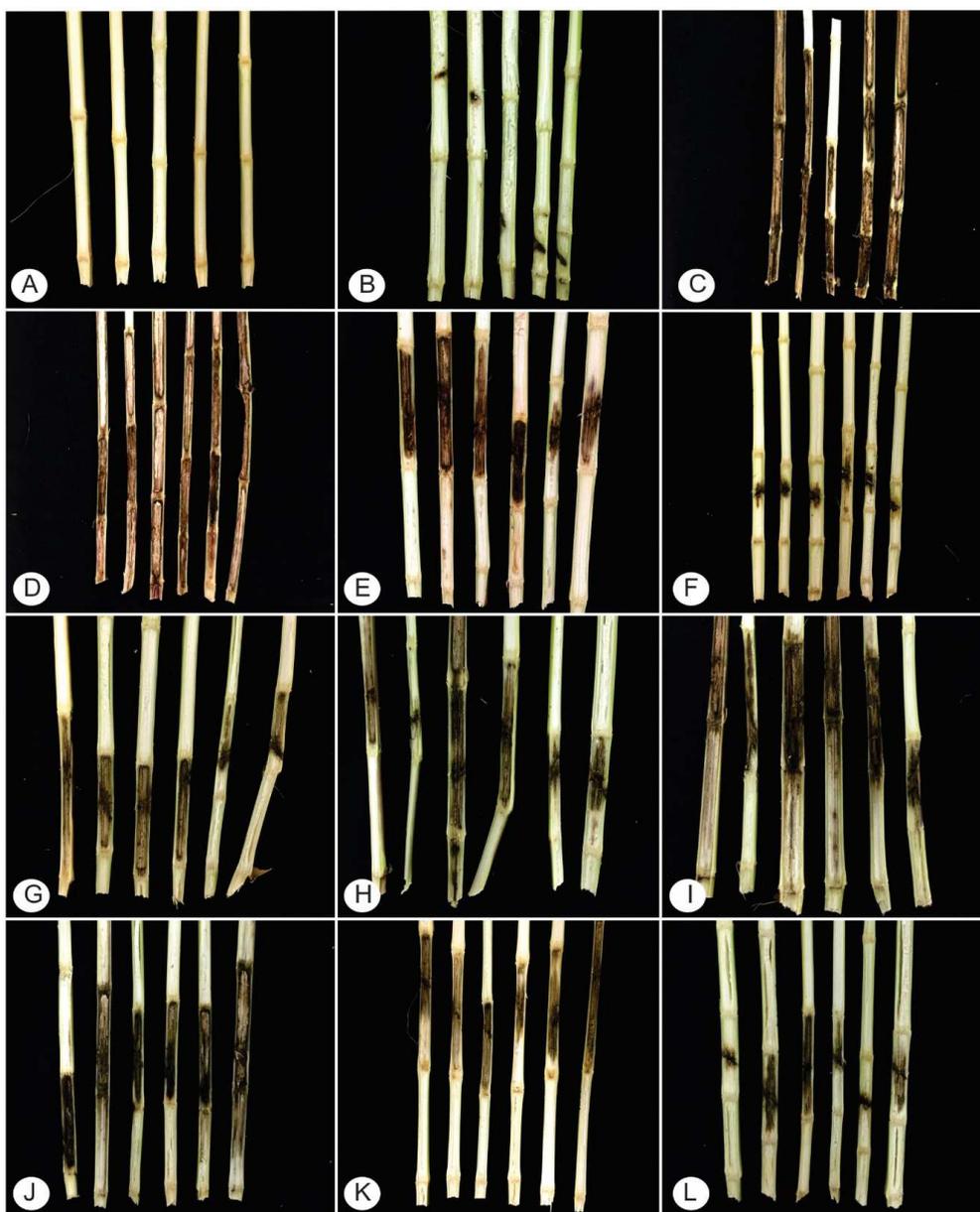


Figura 1. Sintomas provocados por fungos patogênicos nos colmos de milho. (A) – Testemunha Absoluta (B) – Testemunha “inoculada” com palito estéril (C e D) – *Colletotrichum graminicola* (E e F) – *Fusarium graminearum* (G e H) – *Fusarium verticillioides* (I e J) – *Sternocarpela maydes* (K e L) – *Phaeocystostroma ambiguum*

A inoculação com o isolado EMS221 de *P. ambiguum* resultou em percentagem do entrenó com sintomas da doença acima de 80%, não apresentando diferença

significativa aos demais fungos patogênicos empregados no experimento e que são muito agressivos para a cultura do milho (Tabela 1).

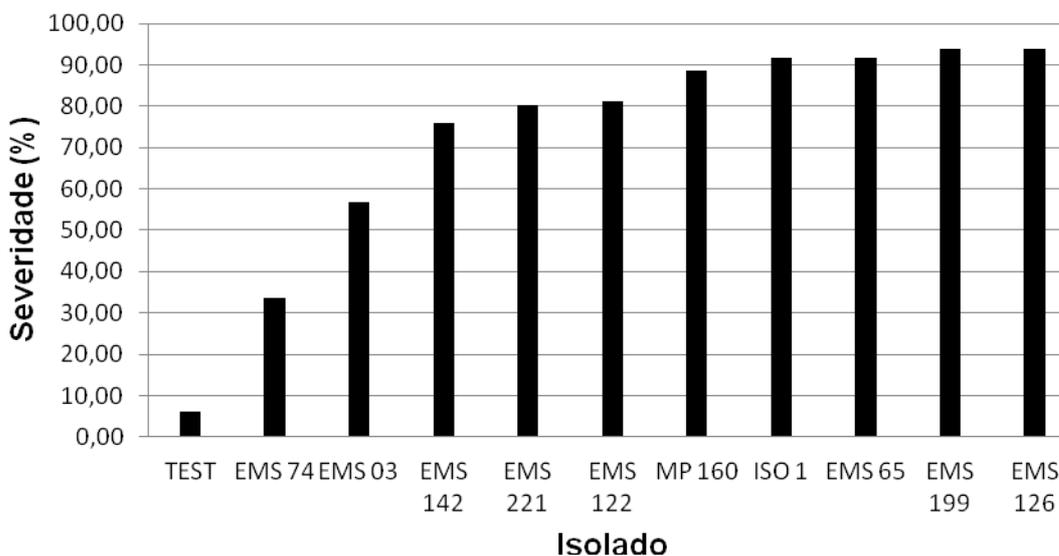


Figura 2. Severidade da podridão do colmo (%) provocada pelos diferentes patógenos inoculados. TEST (testemunha sem inoculação), *Fusarium graminearum* (EMS 74 e EMS 142), *Phaeocystostroma ambiguum* (EMS 03 e EMS 221), *Fusarium verticillioides* (MP 160 e EMS122), *Stenocarpella. maydis* (ISO1, EMS126) e *Colletotrichum graminicola* (EMS 126 e EMS 199)

Tabela 1. Origem dos isolados e respectivas percentagens de lesão em duas cultivares diferentes de milho comparadas estatisticamente.

Isolado	Espécie	Origem	Cultivar			
			DKB390PRO		P30F53YH	
TEST	-	-	6,20*	Aa**	6,20	Aa
EMS 74	<i>F. graminearum</i>	BA	38,13	Ba	28,96	Ba
EMS 03	<i>P. ambiguum</i>	MT	58,96	Ca	54,83	Ca
EMS 122	<i>F. verticillioides</i>	MS	75,00	Da	87,53	Da
EMS 221	<i>P. ambiguum</i>	MS	81,26	Ea	79,20	Da
MP 160	<i>F. verticillioides</i>	RS	85,43	Ea	91,70	Da
EMS 142	<i>F. graminearum</i>	PR	85,46	Eb	66,70	Ca
ISO 1	<i>S. maydis</i>	MG	89,63	Ea	93,80	Da
EMS 65	<i>S. maydis</i>	BA	93,80	Ea	89,63	Da
EMS 126	<i>C. graminicola</i>	PR	93,80	Ea	93,80	Da
EMS 199	<i>C. graminicola</i>	GO	93,80	Ea	93,80	Da
Média			72,86	%	71,47	%

*Percentagem segundo escala diagramática proposta por Nicoli et al. (2015). **Médias seguidas por mesma letra minúscula nas linhas ou letras maiúsculas nas colunas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott-Knott ($p < 0.05$). TEST = Testemunha.

O isolado EMS74 apresentou percentagem de área lesionada relativamente baixa devida a uma possível resistência das cultivares (principalmente P30F53YH) ao isolado

de *Fusarium graminearum* (Tabela 1). Já o isolado EMS142, mesmo apresentando diferença estatística em análise individual entre as cultivares (DKB390PRO 85,46% e P30F53YH 66,70%), demonstrou alto índice patogênico. Essa diferença pode estar associada ao genótipo de cada isolado.

As duas cultivares de milho testadas, DKB390PRO e P30F53YH, não se diferenciaram estatisticamente em relação à susceptibilidade aos fungos testados, apresentando-se vulneráveis ou sugerindo alta agressividade dos patógenos (Tabela 1). O resultado das análises estatísticas sugeriu um agrupamento dos isolados semelhantes baseados na escala diagramática proposta por Nicoli et al. (2015).

Estudos futuros com o fungo *Phaeocystroma ambiguum* precisam ser realizados para identificação de fontes de resistência ao patógeno, avaliação da agressividade e variabilidade patogênica, para melhor caracterização da doença e do patógeno em condições brasileiras. Do mesmo modo, são necessários testes para confirmar a agressividade do patógeno em condições de campo.

Conclusão

A severidade de ataque de *Phaeocystroma ambiguum* nas cultivares DKB390PRO e P30F53YH em casa de vegetação se assemelhou a dos outros fungos testados, descritos anteriormente como causadores de podridão de colmo de milho.

Referencias

AGRIANUAL. Anuário da Agricultura Brasileira. São Paulo: Instituto FNP, 2016. p. 409-444.

AGUIAR, F. M.; LANZA, F. E.; COSTA, R. V.; SILVA, D. D. ; LANA, U. G. P.; GUIMARÃES, E. A.; GOMES, G. R.; COTA, L. V. First Report of *Phaeocystroma ambiguum* Causing Maize Stalk Rot in Brazil. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 100, n. 12, p. 2528, 2016.

COSTA, R. V.; FERREIRA, A. S.; CASELA, C. R.; SILVA, D. D. **Podridões fúngicas de colmo na cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2008. 7 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 100).

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 35, p. 1039-1042, 2011.

MARCONDES, M. M. **Incidência de podridão de colmo e grãos ardidos em híbridos de milho sob diferentes densidades de plantas e épocas de colheita**. 2012. 76 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, 2012.

NICOLI, A.; COSTA, R. V.; COTA, L. V.; SILVA, D. D.; ZAMBOLIM, L.; LANZA, F. E.; GUIMARÃES, D. P.; LANDAU, E. C. Validação de escala diagramática para quantificação da severidade da antracnose do colmo do milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 45, n. 10, p. 1720-1726, out. 2015.

REIS, E. M.; CASA, R. T.; BRESOLIN, A. C. R. **Manual de diagnose e controle de doenças do milho**. Lages: Graphel, 2004. 44 p.