

## REAÇÃO DE LINHAGENS DE MILHO (ZEA MAYS) A UMA BACTÉRIA ISOLADA DE LESÕES DA MANCHA DE PHAEOSPHAERIA

LUZIA D. PACCOLA-MEIRELLES<sup>1</sup>, CARLOS R CASELA<sup>2</sup>, SIDNEY N. PARENTONI<sup>2</sup>, WALTER, F. MEIRELLES<sup>2</sup>, ALEXANDRE S. FERREIRA<sup>2</sup> E IVANILDO E. MARRIEL<sup>2</sup>

<sup>1</sup>UEL/CCB/BIO, CP 6001, 86051-990 Londrina/PR. paccola@uel.br.

<sup>2</sup>Embrapa Milho e Sorgo, CP 151, 35701-970 SeteLagoas/MG casela@cnpmis.embrapa.br; parentoni@cnpmis.embrapa.br; walter@cnpmis.embrapa.br; ferreira@cnpmis.embrapa.br; imarriel@cnpmis.embrapa.br

Palavras - chave: *Pantoea ananas*, *Erwinia ananas*, Resistência

A doença mancha foliar de *Phaeosphaeria* em milho instalou-se no Brasil a partir de 1982 e sua incidência e severidade aumentou significativamente a partir dos anos 90. Os sintomas iniciam-se pelo aparecimento, nas folhas, de manchas cloróticas, aquosas do tipo anasarca tornando-se posteriormente necróticas de coloração palha. Em condições favoráveis, a doença pode levar à seca prematura das folhas com redução do ciclo da planta e queda acentuada no tamanho e peso dos grãos (Pinto *et al.*, 1997). Pinto (1995) detectou uma redução de até 63,16 % na produção de grãos em plantas doentes. Segundo Fernandes *et al.* (1994), o nitrogênio de plantas doentes tende a ficar acumulado no colmo não se translocando para os grãos. O agente causal da doença foi descrito como sendo o fungo *Phaeosphaeria maydis* (P. Henn) Rane, Payak and Renfro (sin. *Sphaerulina maydis* = *Leptosphaeria zae maydis*), f.imperf. *Phyllosticta* sp. (Rane *et al.*, 1966). Embora a doença tenha sido atribuída a um agente fúngico, existem controvérsias com relação a identificação do seu real agente etiológico. Ferreira e Casela (dados não publicados) no início da década de 90, isolaram uma bactéria a partir dessas lesões. Esses autores inocularam a bactéria via pulverização em plantas da cultivar BR 201 onde foram observadas manchas semelhantes a anasarcas, que posteriormente tornaram-se desidratadas com coloração palha. A bactéria foi reisolada, porém não foi identificada. Recentemente foi isolada uma bactéria a partir de lesões iniciais dessa mesma doença, e esta foi classificada como pertencente à espécie *Pantoea ananas* (syn. *Erwinia ananas*). Esta bactéria quando inoculada em plantas de milho HS 200 e BR 3123 com 15 e 45 dias de idade desenvolveu, em casa de vegetação, lesões semelhantes às da mancha de *Phaeosphaeria* (Paccola-Meirelles *et al.*, 1999) (Figura1).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o comportamento de outros genótipos de milho frente ao tratamento com esta bactéria, em casa de vegetação.

**Genótipos de Milho:** Foram utilizadas seis linhagens de Milho provenientes do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Milho e Sorgo, com níveis contrastantes de sensibilidade/resistência a mancha de *Phaeosphaeria*. As linhagens L26, L 404-1 e L11 são resistentes a mancha de phaeosphaeria e as linhagens L942, L 724 e L 726 são altamente susceptíveis.

**Bactéria utilizada :** Foi utilizada uma cepa de *Pantoea ananas* (sin. *Erwinia ananas*) isolada por Paccola Meirelles *et al.* (1999) a partir de lesões jovens, em estágios iniciais da mancha de *Phaeosphaeria* (anasarcas) denominada Reis 1.

**Preparo do Inóculo:** A bactéria foi cultivada a 30°C em meio TSA (Tryptic Soy Agar) e transferida para 50 ml de meio TSB (Tryptic Soy Broth), constituindo o pré inóculo. Após 12 horas de crescimento, 1 ml do pré inóculo foi transferido para 100 ml de meio TSB, constituindo o inóculo. Os frascos foram incubados sob agitação durante 6 horas à

temperatura ambiente.

**Testes de patogenicidade:** O método de inoculação empregado foi o de ferimento foliar com esponja áspera seguido de pulverização com uma suspensão contendo cerca de 10<sup>8</sup> bactérias ml<sup>-1</sup>. Em cada tratamento foram utilizados 3 vasos com 2 plantas cada. Foram inoculadas plantas de milho com 30 e 35 dias de idade. Após o tratamento, as plantas foram mantidas durante 60 horas em câmara úmida. Atribuiu-se notas de 0 a 3 aos tratamentos.

**Resultados e Discussão:** O método de inoculação empregado (ferimento com esponja áspera seguido de pulverização com uma suspensão bacteriana), mostrou-se eficiente (Tabela 1).

Tabela 1: Reação de genótipos de milho à bactéria Reis 1 isolada de lesões em estágio inicial da mancha de *Phaeosphaeria* e classificada como *Pantoea ananas* ( sin. *Erwinia ananas*).

| Linhasgens | Quantidade de lesões | Tipo de lesão  |
|------------|----------------------|----------------|
| L11        | 2                    | muito pequenas |
| L 404-1    | 0                    | -              |
| L26        | 1                    | muito pequenas |
| L724       | 3                    | médias         |
| L726       | 3                    | médias         |
| L 942      | 3                    | médias         |

0: sem lesões

1: poucas lesões

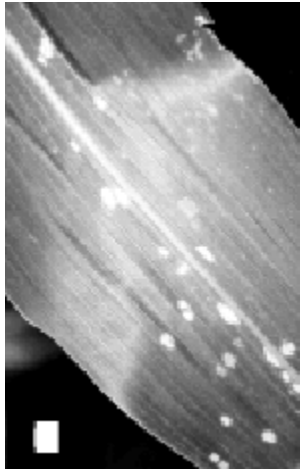
2: número médio de lesões, porém muito pequenas

3: número acentuado de lesões

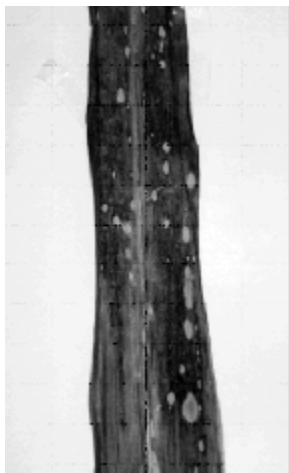
A expressão da doença a campo é bastante variável e dependente do genótipo da planta. As lesões podem variar quanto ao tamanho e número dependendo do cultivar. Fernandes e Oliveira, (1997) descrevem as lesões como sendo necróticas de cor palha, em número variável, circulares a elípticas, com diâmetro variando aproximadamente de 0.3 a 1 cm. Paccola-Meirelles *et al.* (1998 a, b) avaliaram a expressão da resistência dessa doença em 44 genótipos de milho quanto ao tamanho e número de lesões. As lesões variaram em número e forma dependendo da resistência do cultivar. Elas podem coalescer e tornarem-se irregulares na forma (Rane *et al.*, 1966; Parentoni *et al.*, 1994).

Em condições naturais podem ser observadas diferentes reações de resistência à doença, incluindo, ausência de lesões; lesões de tamanho médio a grande, porém escassas; e número grande de lesões de tamanho bastante reduzido.

No presente trabalho, todos os tratamentos inoculados com a bactéria, apresentaram sintomas semelhantes às lesões da mancha de *Phaeosphaeria*, indicando o envolvimento desta bactéria no desenvolvimento desta doença. Os resultados aqui apresentados também confirmaram a reação diferencial de resistência e suscetibilidade dos genótipos de milho à mancha de *Phaeosphaeria* onde os genótipos L26, L404-1 e L11 apresentaram reação de resistência, enquanto que L942, L724, L726 mostraram-se sensíveis, em concordância com os resultados previamente obtidos a campo em condições naturais de infecção.



a



b

Figura 1: a) Folha de milho apresentando a doença descrita como mancha de *Phaeosphaeria* em condições naturais de infecção a campo. b) Folha milho de 30 dias de crescimento, inoculada artificialmente com a bactéria *P. ananas* (syn. *E. ananas*), apresentando os sintomas característicos da doença descrita como mancha de *Phaeosphaeria*.

## LITERATURA CITADA

FERNANDES, F.T.; OLIVEIRA, E, **Principais doenças na cultura do milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 1997. 80p. (EMBRAPA-CNPMS.Circular Técnica, 26).

FERNANDES, F.T.; PINTO, N.F.J. de A.; FRANCA, G.E. Ocorrência de *Phyllosticta* sp em milho no CNPMS. **Relatorio Técnico Anual do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo 1992-1993**, Sete Lagoas, v.6, p.188-189, 1994.

- PACCOLA-MEIRELLES, L.D.; CASELA, C.R. ; FERREIRA, A.S. ; MARRIEL, I.E.; MEIRELLES, W.F. Detecção e identificação de uma bactéria associada a doença mancha foliar por *Phaeosphaeria* em milho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.24, p.314, 1999. Resumo
- PACCOLA-MEIRELLES, L.D.; MEIRELLES, W.F.; CERVELATTI, E.P.; MAKI, C.S.; CASELA, C.R.; FERNANDES, F.T.; FERREIRA, A.S. Caracterização morfológica das lesões da mancha foliar por *Phaeosphaeria* e avaliação da incidência do estágio sexuado e assexuado do patógeno em híbridos de milho. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MILHO E SORGO, 22., 1998, Recife, PE. **Resumos...** Recife: IPA, 1998a
- PACCOLA-MEIRELLES, L.D.; PINTO, N.F.J. de A ; MAKI, C.S.; SILVA, W.F.M., VIELMA, E.R.P. Avaliação da expressão da resistência para mancha foliar de *Phaeosphaeria* em milho (*zea mays*) quanto ao número e tamanho de lesões. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 22., 1998, Recife, PE. **Resumos...** Recife: IPA, 1998b
- PARENTONI, S.N.; FERNANDES, F.T.; MAGNAVACA, R.; GAMA, ; E.E.G.; CASELA, C.R.; LOPES, ; M.A.; GUIMARAES, ; P.E.O.; SANTOS, ; M.X.; ELEUTERIO, A.S., OLIVEIRA, A.C. Avaliação de cruzamentos dialélicos para tolerância à *Phyllosticta* sp em milho. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE MILHO E SORGO, 20., 1994, Goiania, GO. **Centro Oeste cinturao do milho e do sorgo no Brasil** – resumos. Goiania: ABMS, 1994. p.18
- PINTO, N.F.J. de A; FERNANDES, F.T ; OLIVEIRA, E. Milho (*Zea mays* L): Controle de Doenças In: VALE, F.X.R. ; ZAMBOLIM, L. eds. **Controle de doenças de plantas**. Viçosa: UFV, 1997. p.821-864
- PINTO, N.F.J de A Produção de picnídios de *Phyllosticta* sp. "in vivo" e "in vitro" em folhas de milho tratadas com fungicidas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.20, p.333, 1995. Resumo.
- RANE, M.S.; PAYAK, M.M.; RENFRO, B.L. A *Phaeosphaeria* leaf spot of maize. In: SYMPOSIA ON DISEASES OF RICE, MAIZE, SORGHUM AND MILLETS, 1966. Chandigarh. **Proceedings...** New Delhi: Indian Phytopathological Society, 1966. P.8-10 (Indian Phytopathological Society Bulletin, 3)