

INFLUÊNCIA DA IDADE DAS FOLHAS DE DIFERENTES GENÓTIPOS DE MILHO (*Zea mays* Linnaeus) NA DURAÇÃO DO PERÍODO LATENTE DE *Puccinia polysora* Underw¹

GLADYS ALVARENGA FERREIRA DE ANDRADE²
CARLOS ROBERTO CASELA³
MÁRIO SOBRAL DE ABREU⁴

RESUMO - Com o objetivo de se avaliar a influência da idade de folhas de plântulas de milho na duração do período latente de *Puccinia polysora* Underw., foram estudadas as reações de dez genótipos de milho, em casa-de-vegetação. Plântulas no estágio de quatro a cinco folhas foram pulverizadas com uma suspensão de 2×10^4 de uredósporos/ml, de um isolado monopustular. Foi avaliado o período latente médio, ou seja, o período gasto para que 50 % das urédias esporulassem, nas se-

gundas, terceiras e quartas folhas começando no ápice. Para isso, as urédias foram contadas diariamente, mantendo-se constante o horário das avaliações. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, em esquema fatorial, com quatro repetições para cada tratamento. De acordo com as análises estatísticas, pode-se afirmar que o período latente médio mostrou diferenças significativas entre os genótipos e foi menor nas folhas mais velhas.

TERMOS PARA INDEXAÇÃO: *Puccinia polysora*, milho, resistência horizontal, seleção.

THE INFLUENCE OF LEAF AGE OF DIFFERENT MAIZE (*Zea mays* Linnaeus) GENOTYPES ON THE DURATION OF *Puccinia polysora* Underw. LATENT PERIOD

ABSTRACT - To measure the effect of the leaf age of young maize plants on latent period of *Puccinia polysora* Underw, ten maize genotypes were evaluated in greenhouse. Plants in the four to five-leaf stage were sprayed with a 2×10^4 urediniospore/ml suspension of a single pustule isolate. Latent period, defined as the time from inoculation to 50 % of sporulating pustules, was

evaluated, in the second, third and fourth leaves, counted from the plant apex. A randomized complete block experimental design in a factorial scheme with four replications per treatment was used. The statistical analysis showed significant differences among genotypes and a shorter latent period on older than on younger leaves.

INDEX TERMS: *Puccinia polysora*, maize, horizontal resistance, selection.

INTRODUÇÃO

A cultura do milho, não somente no Brasil, mas em todo o mundo, é considerada de grande importância, tanto econômica quanto social. Representando cerca de 35 % da safra de grãos do país, tem sua produtividade ameaçada por um grande número de enfermidades, dentre as quais, vem-se destacando a ferrugem

causada por *Puccinia polysora* Underw.. O aumento na incidência e severidade dessa doença pode estar associado a diversas razões, destacando-se a frequente introdução de cultivares comerciais mais produtivas, porém susceptíveis, e os plantios de safrinha, que podem contribuir para a perpetuação do patógeno e aumento do inóculo (Fernandes e Oliveira, 1997).

1. Parte da dissertação apresentada à UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS (UFLA), pela primeira autora, para a obtenção do grau de mestre em Agronomia, área de concentração em Fitopatologia.
2. Engenheira Agrônoma, M.Sc., Departamento de Fitopatologia/UFLA, Caixa Postal 37, 37 200-000 - Lavras - MG.
3. Engenheiro Agrônomo, D.Sc., Pesquisador da EMBRAPA/ Milho e Sorgo, Caixa Postal 151, Km 65, MG 424, 35 701-970, Sete Lagoas, MG.
4. Engenheiro Agrônomo, D.Sc., Professor Titular do Departamento de Fitopatologia/UFLA.

A resistência horizontal, por ser potencialmente mais durável e estável do que a resistência vertical, tem merecido atenção por parte de melhoristas e fitopatologistas para o controle dessa enfermidade. Essa resistência caracteriza-se por retardar o progresso da doença no campo, é uniformemente efetiva contra todas as raças de um patógeno, além de ser considerada a forma mais eficaz e econômica para o controle de enfermidades (Scott e Zummo, 1989 e van der Plank, 1984).

A avaliação dos componentes da resistência horizontal e a posterior seleção para um ou mais desses componentes é uma maneira de se aumentar essa resistência. Entre os componentes freqüentemente associados a altos níveis dessa resistência, está um período latente prolongado que, em muitos patossistemas, tem sido relatado como um componente importante da resistência horizontal (Abreu, 1978; Johnson e Wilcoxson, 1978; Luke, Chapman e Barnett, 1972; Parlevliet, 1976; Shaner, 1980; Shaner, Ohm e Finney, 1978 e Zadoks, 1972). O período latente pode aparecer associado ou não a outros componentes e sua variação depende muito do patossistema em questão (Shaner, Ohm e Finney, 1978).

Parlevliet (1975 e 1979) afirmou que a seleção para resistência horizontal de batata a *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bari poderia ser feita pela avaliação do período latente, pois, em razão da associação dos componentes da resistência, esse período sendo longo tenderia a aparecer juntamente com uma baixa freqüência de infecção, uma produção de uredósporos reduzida e um período infeccioso mais curto. Entretanto, segundo Clifford (1972), Parlevliet e Kuiper (1977), Parlevliet e Van Ommerem (1975) essa associação pode não ser completa.

Zadoks (1971) demonstrou o quanto a taxa de infecção de uma doença é alterada por variações no período latente. Assim, muitas vezes o componente crucial na determinação da taxa aparente de infecção é considerado quando um grande número de ciclos reprodutivos do patógeno é necessário para se completar a epidemia, como acontece com as ferrugens.

Para Leonard e Mundt (1983), as diferenças entre genótipos em relação à duração do período latente seria de maior importância que os componentes da resistência parcial relacionados à reprodução do patógeno. Entretanto, para *Septoria nodorum* (Berk.) Berk. em trigo e *Pyricularia oryzae* Briosi & Cavara em arroz o período latente não foi muito útil na diferenciação de cultivares (Griffiths e Jones, 1987; Roumen, 1992; Roumen e Boef, 1993).

Alguns fatores podem afetar a expressão da resistência parcial, como é o caso do estágio de crescimento da planta. Esse deve sempre ser considerado na avaliação dos componentes da resistência parcial, porque plântulas freqüentemente produzem reações da doença, sendo, no entanto, diferentes daquelas produzidas por plantas adultas (Parlevliet, 1979; Parlevliet e Kievit, 1986).

No caso de *Puccinia sorghi* Schwein., no milho e *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* (Eriksson) C.O. Johnston, no trigo, o período latente, avaliado em cultivares susceptíveis, foi pouco influenciado pelo estágio de desenvolvimento da planta (Pataky, 1986; Pretorius, Rijkenberg e Wilcoxson, 1988) e ainda, segundo Rijkenberg e Wilcoxson (1988), o período latente foi afetado pela posição da folha e pelo genótipo hospedeiro.

Broers (1989) encontrou resultados semelhantes ao estudar *Puccinia recondita* Roberge em trigo. Ele afirmou que o aumento na resistência com o aumento da idade da planta pode ser dividido em duas categorias: aumento da resistência causado por diferenças no tecido foliar e aumento da resistência por causa dos genes da resistência parcial, que talvez não se expressem em plântulas ou que se expressem melhor em plantas adultas. Segundo Broers (1989), testes com plântulas, apesar de tomarem menos tempo e espaço do que testes com plantas adultas e de não sofrerem problemas relacionados a diferenças de crescimento, podem não fornecer resultados precisos.

Uma boa correlação entre o período latente medido em plântulas e plantas adultas foi observada para o milho e *Exserohilum turcicum* (Pass.) Leonard & Suggs (Brewster, Carson e Wicks, 1992), aveia e *Puccinia coronata* Corda (Luke, Chapman e Barnett, 1972) e cevada e *Puccinia hordei* Otth (Parlevliet, 1976; Parlevliet e Kuiper, 1977). Segundo Parlevliet (1975) e Parlevliet e Kievit (1986), há uma correlação entre período latente de plântulas e de plantas adultas mas, deve-se ter cautela ao se considerar a avaliação feita em plântulas, principalmente em se tratando de cultivares mais resistentes.

Ao comparar folhas de diferentes estágios de desenvolvimento, Parlevliet (1975, 1976 e 1979) observou um aumento do período latente de *Puccinia hordei* Otth, em cevada, em direção às folhas mais jovens. Portanto, de acordo com esse autor, existem duas tendências em relação ao período latente: um aumento nesse período à medida que a planta se desenvolve e uma diminuição em razão do envelhecimento da folha. A resistência parcial, nesse patossistema, esteve alta-

mente correlacionada com a duração do período latente na folha bandeira.

Ainda faltam informações sobre o período latente da ferrugem do milho *P. polysora* Underw. e sua importância ainda não está bem definida. Em relação a esse componente da agressividade, a variação na expressão da resistência por causa da idade da planta e da folha também necessita de mais informações. Nesse caso, o primeiro passo a ser tomado na seleção para resistência horizontal, em casa de vegetação, avaliando-se o período latente seria identificar, dentro do patossistema em questão, o estágio de desenvolvimento tanto da folha quanto da planta que melhor se correlacione com resultados obtidos em campo. A relação consistente desses resultados indicaria que estudos em casa-de-vegetação permitiriam a seleção para resistência à ferrugem *polysora* em áreas nas quais a epidemia normalmente não ocorre ou em anos em que as condições ambientais não favorecem seu desenvolvimento no campo. No caso específico dessa ferrugem, que é uma doença policíclica, diferenças relativamente pequenas no período latente poderiam resultar em diferenças substanciais entre cultivares com resistência horizontal.

Assim, o objetivo que se pretende com este trabalho foi avaliar em casa de vegetação a influência da idade das folhas de plântulas de milho na duração do período latente de *P. polysora* Underw.

MATERIAL E MÉTODOS

O isolado 34.96 de *P. polysora* Underw., proveniente da região de Capinópolis - MG, foi coletado no verão de 1996 e multiplicado em casa de vegetação, na Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas, MG. O período latente médio desse isolado monopustular foi observado nos genótipos de milho 2841 x 2891, HS 201-Fêmea, 26 x 2841, 274 x 266, 1099 x 1096, 942 x 10, HS 201-Macho, 726 x 11, 723 x 13 e HS 20 x 22 da Embrapa Milho e Sorgo.

O inóculo foi produzido com base em uredósporos coletados em folhas de uma cultivar susceptível, em casa-de-vegetação, com o auxílio de uma espátula e colocados em vidros de relógio flambados e armazenados em microtubos Eppendorf.

Para o preparo do inóculo, os uredósporos de cada isolado foram colocados em 40 ml de água destilada onde foi adicionada uma gota de Tween 20. Logo após, procedeu-se à agitação da suspensão em agitador magnético, por um período de três a cinco minutos. A concentração da suspensão obtida foi determinada em

câmara de Neubauer e padronizada para 2×10^4 uredósporos/ml de água destilada.

Foi utilizado um isolado de *P. polysora* Underw., dez genótipos de milho e três posições de folha totalizando trinta tratamentos, repetidos quatro vezes. Foram semeadas sete sementes de um mesmo genótipo por vaso, contendo solo de campo, adubado segundo recomendações da análise química do solo. Dois dias após germinação, foi feito o desbaste, deixando-se quatro plantas por vaso. Cada vaso com quatro plantas foi considerado uma parcela. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso, em esquema fatorial.

A inoculação foi feita ao entardecer em plântulas no estágio de quatro a cinco folhas. Foi retirada manualmente a cerosidade existente na superfície das folhas, para aumentar a aderência da suspensão a ser inoculada. Foram pulverizados 8 ml de suspensão por vaso. Após, os vasos foram colocados em câmara úmida com 100 % de umidade relativa, por um período de 14 horas, a uma temperatura de 25 a 30 °C. Depois desse período, os vasos foram transferidos para casa de vegetação, onde permaneceram até o final das avaliações, a uma temperatura de 25 a 45 °C e umidade relativa de 80 a 100 %.

As avaliações do período latente médio foram feitas nas segundas, terceiras e quartas folhas começando do ápice, de cada plântula. Considerou-se como período latente médio (PL₅₀) o tempo médio requerido entre a inoculação e a presença de 50 % das urédias em esporulação. Para isso, contou-se diariamente e sempre à mesma hora o número de urédias, até que todas estivessem rompidas. Foram desprezadas as extremidades das folhas, sendo avaliadas áreas de dezoito centímetros de comprimento. Os dados obtidos foram transformados por $\log(x+2)$ e submetidos à análise de variância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise de variância feita para o PL₅₀ do isolado 34.96 de *P. polysora* Underw., inoculado em folhas de genótipos de milho, mostrou diferenças significativas entre os genótipos e as idades das folhas e uma interação não significativa entre eles (Tabela 1).

Independente da folha avaliada, o isolado 34.96 apresentou um PL₅₀ maior no genótipo 942 x 10, embora tenha diferido significativamente somente dos genótipos HS 201-Macho e 2841 x 2891. O genótipo 2841 x 2891 mostrou um PL₅₀ menor, entretanto não diferindo significativamente dos genótipos HS 201-Macho, 723 x 13, 274 x 266 e HS 20 x 22 (Tabela 2).

TABELA 1 - Período latente médio (PL₅₀) de um isolado de *Puccinia polysora* Underw., em folhas de diferentes idades, de plântulas de milho (*Zea mays* L.), em casa-de-vegetação. Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, 1997.

Folha **	PL ₅₀ (em dias)
Terceira	12,9 a *
Segunda	12,8 a
Quarta	11,6 b

** Folhas contadas a partir do ápice.

* Médias com a mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Duncan, ao nível de 5 % de probabilidade. CV = 5,1 %

TABELA 2 - Período latente médio (PL₅₀) de um isolado de *Puccinia polysora* Underw., em de milho (*Zea mays* L.), no estágio de quatro a cinco folha em casa-de-vegetação. Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, 1997.

Genótipos	PL ₅₀ (em dias)
942 x 10	13,5 a *
1099 x 1096	13,2 ab
HS 201-Fêmea	13,1 ab
26 x 2841	12,7 ab
726 x 11	12,7 ab
HS 20 x 22	12,5 abc
274 x 266	12,0 abc
723 x 13	12,0 abc
HS 201-Macho	11,4 bc
2841 x 2891	11,4 c

* Médias com a mesma letra não diferem entre si, pelo Teste de Duncan, ao nível de 5 % de probabilidade. CV = 5,1 %

Entretanto, podem-se observar diferenças não significativas na duração do PL₅₀ entre as idades das folhas, nos genótipos HS 201-Macho e HS 201-Fêmea,

e entre os genótipos de milho, quando o PL₅₀ foi avaliado na segunda folha (Tabela 3).

As diferenças observadas nas folhas mais novas sugeriram que com o crescimento da planta a evolução da ferrugem seja mais lenta nos genótipos 942x10 e HS 201-Fêmea do que no genótipo HS 201-Macho.

Considerando-se um único patossistema, a resistência parcial pode variar, dependendo de alguns fatores, dentre os quais pode-se destacar o genótipo, o estágio de desenvolvimento da planta, a idade e a posição da folha na planta (Parlevliet, 1975, 1976 e 1979). Assim, numa avaliação dos componentes da resistência parcial, esses fatores devem sempre ser considerados.

Os resultados encontrados mostraram que o PL₅₀ foi capaz de diferenciar os genótipos de milho no estágio de plântula, com relação à resistência parcial à *P. polysora* Underw., o que poderá facilitar trabalhos de melhoramento quando ocorrer a correspondência com aqueles obtidos com base em plantas adultas em campo.

Entretanto, esses resultados devem ser considerados como o ponto de partida para futuros experimentos, já que, um outro ponto importante a ser considerado é a tendência de diferenciação entre os genótipos, pela avaliação do PL₅₀ nas folhas mais novas, permitindo inferir que resultados mais interessantes poderão ser obtidos em plantas com idade mais avançada, sem a necessidade de se trabalhar com plantas adultas. Parlevliet (1975 e 1979), Parlevliet e Kievit (1986) e Shaner e Hess (1978) obtiveram resultados semelhantes, estudando *Puccinia recondita* f.sp. *tritici* (Eriksson) C.O. Johnston em trigo e *Puccinia hordei* Oth em cevada, para os quais as diferenças de resistência entre cultivares foram maiores à medida que a planta se desenvolvia.

No presente trabalho, ainda foi observada a diminuição do PL₅₀ de *P. polysora* à medida que as folhas envelheciam. Da mesma forma a influência da idade das folhas na duração do período latente foi relatada por Parlevliet (1975, 1976 e 1979), trabalhando com cevada e *Puccinia hordei*, Oth e Ohm e Shaner (1976), estudando cultivares de trigo, com resistência parcial a *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* (Eriksson) C.O. Johnston.

CONCLUSÕES

a) O período latente médio do isolado 34.96 de *Puccinia polysora* Underw. permitiu a diferenciação de genótipos de milho no estágio de quatro a cinco folhas;

TABELA 3 - Período latente médio de *Puccinia polysora* Underw., em folhas de diferentes idades, em dez genótipos de milho (*Zea mays* L.), em casa-de-vegetação. Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, 1997.

Genótipos	PL ₅₀ (em dias) para folhas de diferentes idades **		
	Segunda	Terceira	Quarta
942 x 10	14,6 a A	13,6 a A	12,2 a A *
HS 201-Fêmea	14,2 a A	14,3 a A	10,9 a B
1099 x 1096	14,1 ab A	12,4 a A	12,9 a A
26 x 2841	13,5 ab A	13,4 a A	11,3 a A
723 x 13	12,6 ab A	12,6 a A	10,8 a A
HS 20 x 22	12,6 ab A	12,4 a A	12,6 a A
726 x 11	12,6 ab A	12,7 a A	12,9 a A
274 x 266	12,2 ab A	12,4 a A	11,5 a A
2841 x 2891	11,6 ab A	12,0 a A	10,5 a A
HS 201-Macho	10,4 b B	13,3 a A	10,6 a AB

** Folhas contadas com base no ápice.

* Médias com a mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem entre si pelo Teste de Duncan, ao nível de 5 % de probabilidade. CV = 5,1 %

b) O isolado de *Puccinia polysora* Underw. teve um período latente médio menor nas folhas mais velhas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, M.S. Identificação de parâmetros para avaliação da resistência horizontal de *Coffea* sp. a *Hemileia vastatrix* Berk e Br. Viçosa: UFV, 1978. 64p. (Dissertação - Mestrado em Fitopatologia).
- BREWSTER, V A.; CARSON, M.L.; WICKS, Z.W. Mapping components of partial resistance to northern leaf blight of maize using reciprocal translocations. *Phytopathology*, v.82, n.2, p.225-229, 1992.
- BROERS, L.H.M. Influence of development stage and host genotype on three components of partial resistance to leaf rust in spring wheat. *Euphytica*, v.44, n.3, p.187-195, 1989.
- CLIFFORD, B.C. The histology of race non specific resistance to *Puccinia hordei* Otth. in barley. In: EUROPEAN AND MEDITERRANEAN CEREAL RUSTS CONFERENCE, 5, 1972, Prague: *Proceedings...* Prague, 1972. p.75-78.
- FERNANDES, F.T.; OLIVEIRA, E. **Principais doenças na cultura do milho**, Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 1997. 80p. (Circular Técnica, 26).

- GRIFFITHS, H.M.; JONES, D.G. Components of partial resistance as criteria for identifying resistance. *Annals of Applied Biology*, v.110, p.603-610, 1987.
- JOHNSON, D.A.; WILCOXSON, R.D. Components of slow-rusting in barley infected with *Puccinia hordei*. *Phytopathology*, v.68, n.10, p.1470-1474, 1978.
- LEONARD, K.J.; MUNDT, C.C. Methods for estimating epidemiological effects of quantitative resistance to plant diseases. *Theoretical and Applied Genetics*, v.67, n.2, p.219-230, 1983.
- LUKE, H.H.; CHAPMAN, W.H.; BARNETT, R.D. Horizontal resistance of red rust proof oats to Crown rust. *Phytopathology*, v.62, n.4, p.414-417, 1972.
- OHM, H.W.; SHANER, G.E. Three components of slow leaf-rusting at different growth stages in wheat. *Phytopathology*, v.66, n.11, p.1356-1360, 1976.
- PARLEVLIET, J.E. Components of resistance that reduce the rate of epidemic development. *Annual Review of Phytopathology*, v.17, p.203-222, 1979.
- PARLEVLIET, J.E. Evaluation of the concept of horizontal resistance in the barley/*Puccinia hordei* host-pathogen relationship. *Phytopathology*, v.66, n.4, p.494-497, 1976.
- PARLEVLIET, J.E. Partial resistance of barley to leaf rust, *Puccinia hordei*. I. Effect of cultivar and development stage on latent period. *Euphytica*, v.24, n.1, p.21-27, 1975.
- PARLEVLIET, J.E.; KIEVIT, C. Development of barley leaf rust, *Puccinia hordei*, infections in barley. I. Effects of partial resistance and plant stage. *Euphytica*, v.35, n.3, p.953-959, 1986.
- PARLEVLIET, J.E.; KUIPER, H. J. Partial resistance of barley to leaf rust, *Puccinia hordei*. IV. Effect of cultivar and development stage on infection frequency. *Euphytica*, v.26, n.2, p.249-255, 1977.
- PARLEVLIET, J. E.; VAN OMMEREN, A. Partial resistance of barley to leaf rust, *Puccinia hordei*. II. Relationship between field trials, micro plot tests and latent period. *Euphytica*, v.24, n.2, p.293-303, 1975.
- PATAKY, J.K. Partial rust resistance in sweet corn hybrid seedlings. *Phytopathology*, v.76, n.7, p.702-707, 1986.
- PRETORIUS, Z.A.; RIJKENBERG, F.H.J.; WILCOXSON, R.D. Effects of growth stage, leaf position and temperature on adult-plant resistance of wheat infected by *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*. *Plant Pathology*, v.37, n.1, p.36-44, 1988.
- ROUMEN, E.C. Effect of leaf age on components of partial resistance in rice to leaf blast. *Euphytica*, v.63, n.3, p.271-279, 1992.
- ROUMEN, E.C.; BOEF, W.S. de. Latent period to leaf blast in rice and its importance as a component of partial resistance. *Euphytica*, v.69, n.3, p.185-190, 1993.
- SCOTT, G.E.; ZUMMO, N. Effect of genes with slow-rusting characteristics on southern corn rust in maize. *Plant Disease*, v.73, n.2, p.114-116, 1989.
- SHANER, G. Probits for analyzing latent period data in studies of slow-rusting resistance. *Phytopathology*, v.70, n.6, p.1179-1182, 1980.
- SHANER, G.; HESS, F.D. Equations for integrating components of slow-rusting resistance in wheat. *Phytopathology*, v.68, n.10, p.1464-1469, 1978.
- SHANER, G.; OHM, H.W.; FINNEY, R.E. Response of susceptible and slow leaf-rusting wheats to infection by *Puccinia recondita*. *Phytopathology*, v.68, n.3, p.471-475, 1978.
- van der PLANK, J.E. *Disease resistance in plants*. Orlando: Academic Press, 1984. 194p.
- ZADOKS, J.C. Methodology of epidemiological research. *Annual Review of Phytopathology*, v.10, p.253-276, 1972.
- ZADOKS, J.C. System analysis and dynamics of epidemics. *Phytopathology*, v.61, n.6, p.600-610, 1971.