

CAPÍTULO 2

INOCULAÇÃO E RESISTÊNCIA DA ANTRACNOSE NO MILHO “COLLETOTRICHUM GRAMINICOLA”

DOI 10.47402/ed.ep.c202319782907

Ana Lúcia Carvalho de Souza
Felipe Augusto Marques Borges
Maísa Lissandra Nascimento Souza da Silva
Nathanael de Sena Ribeiro
Vitória Andrade Goveia
Otavio Cabral Neto
Alysson Soares da Rocha
Clauber Rosanova

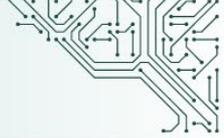
RESUMO

No milho, a antracnose causada por *C. graminicola* destaca-se como uma das principais doenças da cultura, uma vez que o patógeno é capaz de infectar praticamente toda a planta. O estudo da antracnose é de grande importância para as culturas de grãos, podendo evitar perdas significativas, o que diminui o valor de comercialização do produto, com o Brasil sendo um dos principais produtores de milho é importante ficar atento com as doenças que podem afetar a produção de grãos. Com base nas mudanças na expressão gênica foram estudadas em raízes, inflorescências masculinas e femininas de milho sob tratamentos de infecção fúngica local e sistêmica, respectivamente, com intuito de quantificar a antracnose do colmo em milho foi projetado uma escala diagramática, depois usando uma nova escala proposta que obteve diferentes resultados e os valores foram mais próximos de uma medição acurada, uma escala diagramática para avaliar a severidade da antracnose foliar causada por *Colletotrichum graminicola* na cultura do milho que foram colhidas folhas de milho com diversas severidades da doença para a criação da escala diagramática e levadas a laboratório para seleção e captação das imagens. Através da observação da regressão, foi analisado o grau de severidade real, podendo assim determinar a relação entre os graus de severidade real, e o estimado com e sem o uso da escala, com uma alta precisão e a acurácia quando usadas na escala para os avaliadores experientes, quanto para os inexperientes.

Palavras-chave: *Antracnose, colmo, colletotrichum graminicola, severidade e zea mays.*

ABSTRACT

In maize, anthracnose caused by *C. graminicola* stands out as one of the main diseases of the crop, since the pathogen is capable of infecting practically the entire plant. The study of anthracnose is of great importance for grain crops, being able to avoid significant losses, which reduces the commercialization value of the product, with Brazil being one of the main producers of corn. It is important to be aware of diseases that can affect grain production. Based on changes in gene expression were studied in roots, male and female inflorescences of maize under treatments of local and systemic fungal infection, respectively, in order to quantify stem anthracnose in maize a diagrammatic scale was designed, then using a new scale proposal which obtained different results and the values were closer to an accurate measurement, a diagrammatic scale to assess the severity of leaf anthracnose caused by *Colletotrichum graminicola* in the corn crop that corn leaves with different disease severities were harvested for the creation of the diagrammatic scale



and taken to the laboratory for selection and capture of images. Via observation of the regression, the actual severity degree was analyzed, thus being able to determine the relationship between the actual severity degrees, and the estimated with and without the use of the scale, with a high precision and accuracy when used in the scale for experienced evaluators, as well as for the inexperienced.

Keywords: *Anthracoze, colletotrichum graminicola, severity, stalk and zea mays.*

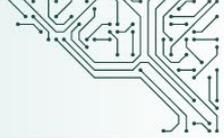
INTRODUÇÃO

A origem mais provável do milho é no México, depois o grão se firmou na América do sul, onde sua origem está mais precisamente no sul do Peru. O milho é pertencente à família Poaceae que é composta por várias espécies, sendo o milho (*Zea mays*) um dos principais. No Brasil o milho já era cultivado pelos indígenas antes da chegada dos portugueses, mas foi com a chegada dos colonizadores que o consumo do cereal no país aumentou e passou a integrar o hábito alimentar da população (AGRO PÓS, [entre 2019 e 2021]).

O milho é a base energética de rações para aves, suínos e bovinos, no processo de produção de carnes, destinadas à alimentação humana. Somente uma parcela menor do volume produzido de milho é utilizada diretamente na dieta humana, como farinhas, óleos, adoçantes, macarrão e biscoitos, entre outros alimentos em que o milho é componente. O milho possui um papel fundamental para a rotação de culturas, pois produz uma grande quantidade de palha que auxilia na proteção do solo, na reciclagem de nutrientes e no incremento de matéria orgânica no solo (SLC AGRÍCOLA, 2018).

Segundo Mais Soja (2022), o Brasil atualmente possui a terceira maior produção mundial de milho de acordo com a CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento, as estimativas da safra 2021/22 apontam uma recuperação na produção brasileira, ficando próxima aos 113,2 milhões de toneladas do grão, um aumento de 30,1% referente ao período anterior (CONAB, 2019). O valor de produção teve uma retração de 14,9%, ficando em 88,5 milhões de toneladas, que ocasionalmente subiu o valor de produção em 60,7% chegando a R\$ 116,4 bilhões (IBGE 2022).

O Brasil é um dos produtores de soja e milho do mundo, é importante se atentar com as doenças que afetam essas culturas, sendo uma das principais doenças a Antracnose afeta as regiões tropicais do Brasil, podendo gerar muitos prejuízos para os agricultores e impactando na qualidade do produto. “Na cultura do milho, as consequências da doença



podem provocar uma redução da produtividade estimada entre 18% e 40%” (TERRA MAGNA, 2022).

Levando em conta a importância do milho para a sociedade, e o quanto a antracnose pode impactar negativamente a qualidade do produto, o presente artigo tem por objetivo indicar os métodos mais eficazes, a fim de que a mesma não seja mais uma problemática.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho objetivou realizar um levantamento dos artigos publicados em periódicos científicos, sites renomados, livros e revistas da área de Ciência Agrárias, Fitopatologia Brasileira, sobre o efeito da antracnose nas culturas de milho.

Como estratégia de busca foram utilizadas as palavras chaves (Zea mays, antracnose foliar, índice de doença, Colletotrichum graminicola e severidade) como direcionamento e busca realizada on-line. Após o levantamento, foram encontrados 16 documentos relacionados, que posteriormente adotou-se o critério de selecionar os documentos mais atuais (2015-2022), restando (07) que foram usados neste artigo de revisão.

Os procedimentos a serem utilizados, decorrerá de uma rígida pesquisa, assim dizendo, pesquisa bibliográfica. Levando em conta que o presente artigo irá transcorrer através de um estudo exploratório, onde será necessário ter um determinado aprofundamento em métodos já utilizados anteriormente.

3. REVISÃO

3.1 O que é antracnose?

O gênero Colletotrichum são agrupados alguns dos patógenos na agricultura, em virtude das perdas potenciais que podem causar, sendo primordial a capacidade de diagnóstico desta doença. No milho, a antracnose causada por *C. graminicola* destaca-se como uma das principais doenças da cultura (Bergstrom & Nicholson, 1999), uma vez que o patógeno é capaz de infectar praticamente toda a planta.

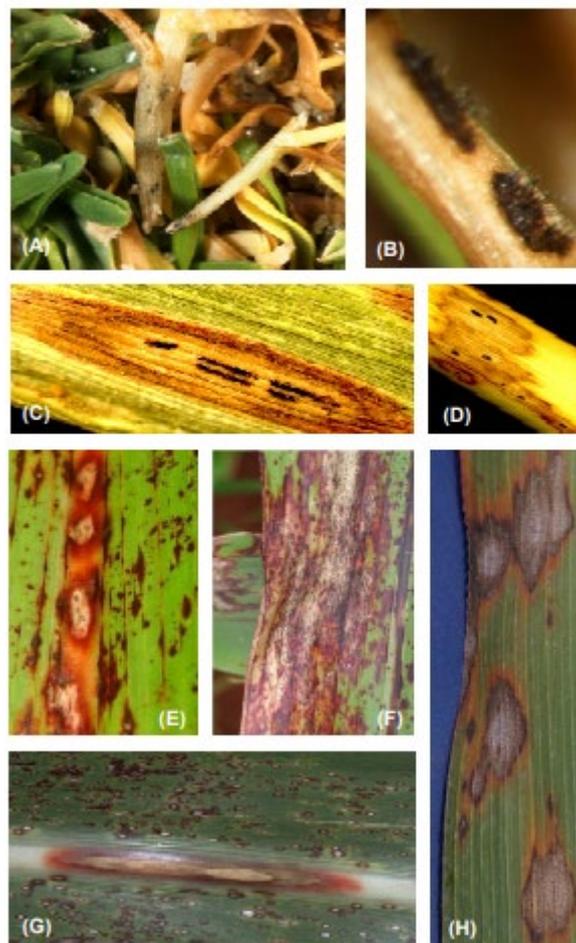
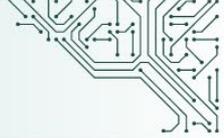
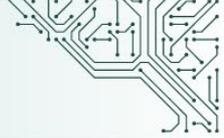


Fig. 1. Sintomas da doença da antracnose em cereais e gramíneas causada por espécies de *Colletotrichum*. **A, B.** antracnose basal podridão do caule da turfa *Poa annua*; **B** mostra um close-up de cerdas emergindo de acervuli na superfície da planta; **C, D.** *C. navitas* on *Panicum virgatum* folhas e caule; **E, F.** *C. sublineola* em folhas de *Sorghum bicolor*; **G.** Podridão vermelha de *Saccharum officinarum* causada por *C. falcatum*; e **H.** *C. caudatum* em *Sorghastrum nutans*. Fotos cortesia de John Inguagiato (**A,B**); Éster Buiate (**E, F**); Eric McKenzie (**G**) e Gary Bergstrom (**H**). Fonte: BERGSTROM & NICHOLSON, 1999.

3.2 Importância do estudo da antracnose

A antracnose é de grande importância para as culturas de grãos, podendo causar perdas quantitativas e qualitativas, como manchas nos grãos ou sementes, o que diminui o valor de comercialização do produto, com o Brasil sendo um dos principais produtores de milho é importante ficar atento com as doenças que podem afetar a produção de grãos (CHINELATO., 2019).

A ocorrência de doenças no milho, podem gerar grandes prejuízos econômicos, a antracnose, provocada pelo fungo *Colletotrichum graminicola*, pode reduzir a produção do milho em até 40%, quando utilizadas cultivares suscetíveis e as condições de umidade forem favoráveis ao fungo (CHINELATO, 2019).

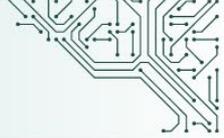


3.3 Métodos de identificação

Na fase foliar, a doença é identificada pela presença de lesões de formas variadas e necróticas, podendo ser extensa queima das folhas. Nas nervuras, é comum a presença de lesões elípticas com acérvulos do patógeno. A fase de podridão de colmo é caracterizada pela formação, na casca, de lesões estreitas e elípticas, as quais tornam-se, posteriormente, marrom escuras a negras, e pela formação de acérvulos do patógeno. Estimativas dos efeitos da antracnose foliar e da podridão de colmo na produção de grãos de milho variam de 0% a 40%, dependendo da cultivar, das condições ambientais, da época de ocorrência das epidemias e da ocorrência de outras pragas (Cota et al., 2012).

A principal medida de manejo da antracnose do milho é o uso de cultivares resistentes. Para o sucesso do uso da resistência genética e a ampliação da vida útil dos genes de resistência, é importante o conhecimento da diversidade genética da população do patógeno, assim como a correta identificação da espécie ou da raça predominante na população. (Crouch & Beirn, 2009; Hyde et al., 2009b).

Sabe-se que o índice de acometimento da doença está ligado a diversos fatores. As regiões em que utilizam do sistema de plantio direto ligado a não rotação de culturas estão mais propícias ao aumento na taxa de incidência do fungo. Esse aumento resulta da quantidade inicial de inóculo presente nos restos da cultura. As condições ambientais, especialmente temperaturas elevadas (28 a 30° C), alta umidade relativa do ar e chuvas frequentes são favoráveis para o desenvolvimento e reprodução do fungo (IZI GESTÃO AGRO, 2022).



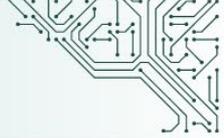
Fonte: IZI GESTÃO AGRO, 2022.

3.4 Colletotrichum graminicola de folhas ou caules são agressivos na inoculação cruzada

Segundo Nicoli et al. (2016), analisando as fontes isoladas de *Colletotrichum graminicola* (folhas ou colmos) afetam o desenvolvimento da mancha-das-folhas (ALB) e podridão-do-colmo (ASR). Sendo que tanto o ALB quanto o ASR foram avaliados usando uma escala ordinal de 0 a 5. Independentemente dos híbridos, que apresentaram níveis distintos de resistência à antracnose (ALB ou ASR), não foram encontradas diferenças estatísticas na severidade de ALB e ASR entre os grupos de isolados. Mesmo para o híbrido 2B710 mais resistente, portanto, comparando-se a gravidade ALB e ASR induzida por dois conjuntos de isolados agrupados por seu tecido de origem, logo, não tem evidências de preferência tecidual. A capacidade de *C. graminicola* infectar e causar antracnose em qualquer parte da planta de milho parece não depender da fonte do isolado.

3.5 Análise transcriptômica associados à resistência local Colletotrichum graminicola em milho

Com as vias de defesa da planta no local da inoculação e sistemicamente em tecidos não inoculados podem auxiliar no desenvolvimento de engenharia genética de resistência contra o patógeno. Com base nas mudanças na expressão gênica foram estudadas em raízes, inflorescências masculinas e femininas de milho sob tratamentos de infecção fúngica local e sistêmica, respectivamente. RNA-Seq com qPCR foi usado para indicar genes envolvidos na defesa da planta. Sabe-se que a indução de resistência



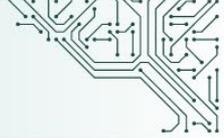
sistêmica adquirida em inflorescências femininas envolve principalmente o acúmulo de genes de defesa induzidos por ácido salicílico (SA) e genes potenciais envolvidos na modificação da cromatina. Juntamente com a participação da imunidade da planta através dos transcritos envolvidos nas vias de sinalização do ácido jasmônico (JA) e etileno (ET). Além disso, vários genes foram re-anotados funcionalmente com base na assinatura de domínio, indicando novos candidatos a serem testados em estratégias envolvendo nocaute e superexpressão de genes em plantas (MIRANDA ET AL., 2017).

3.6 A quantificação da antracnose do colmo em milho

Neste outro método, com intuito de quantificar a antracnose do colmo em milho foi projetado uma escala diagramática. De modo que, 10 avaliadores inicialmente avaliaram sem uso de escala em 139 entrenós, depois usando uma (primeira escala) e uma nova escala proposta que obteve diferentes resultados em relação à primeira escala, e os valores foram mais próximos de uma medição acurada. Analisou-se que sem o uso de escalas e com a primeira escala, houve erros maiores do que 30% do valor real, ao contrário da escala proposta em que a maioria dos erros foi no intervalo de 10% do valor real encontrado. Sendo assim, tendo uma ideal estimativa da severidade da doença com o uso da escala proposta, com a qual 100% das comparações resultaram em um $R^2 > 0,90$. Portanto, a nova escala proposta diagramática obteve resultados de precisão e confiabilidade das estimativas da severidade da antracnose do colmo em milho (NICOLI et al, 2015).

3.7 Adubação nitrogenada na severidade de doenças foliares

O nitrogênio está envolvido em muitos processos metabólicos relacionados aos mecanismos de defesa das plantas e contribui para o aumento da resistência a doenças, além de aumentar diretamente a produtividade. Com objetivo de avaliar o efeito da adubação nitrogenada na severidade de doenças foliares, produtividade e respostas bioquímicas em híbridos de milho. Foram conduzidos dois experimentos a campo, em delineamento em blocos ao acaso, com tratamentos dispostos em parcelas subdivididas e três repetições. As parcelas foram compostas por híbridos e as subparcelas por doses de nitrogênio. A maioria dos híbridos avaliados respondeu à mancha bipolar e a antracnose foliar mais severa nas menores doses de nitrogênio testadas. Para os híbridos a ferrugem polissacarídica foi mais severa sob condições de alto nitrogênio. Onde foi observado que a qualidade de mil grãos não é afetada pela diferença de dosagem. Catalase e prolina



adquiriram maior e menor atividade, respectivamente, com as manchas bipolares mais severas. Mais aminoácidos foram encontrados em altas doses de nitrogênio (CHAGAS, 2018).

3.8 A quantificação da antracnose na folha do milho

Segundo Trojan e Pria (2018) utilizando uma escala diagramática para avaliar a severidade da antracnose foliar causada por *Colletotrichum graminicola* na cultura do milho. Onde foram colhidas folhas de milho com diversas severidades da doença para a criação da escala diagramática e levadas a laboratório para seleção e captação das imagens com o aplicativo Quant v.1.0.2, sendo observadas por avaliadores experientes e inexperientes.

Através da observação da regressão, foi analisado o grau de severidade real, podendo assim determinar a relação entre os graus de severidade real, e o estimado com e sem o uso da escala. A precisão foi determinada pela variância e pelo coeficiente de determinação. A precisão e a acurácia foram maiores quando usaram a escala tanto para os avaliadores experientes, quanto para os inexperientes. Mostrando assim que a escala proposta mostrou ser uma ferramenta assertiva para a severidade e a quantificação da antracnose (TROJAN; PRIA, 2018).

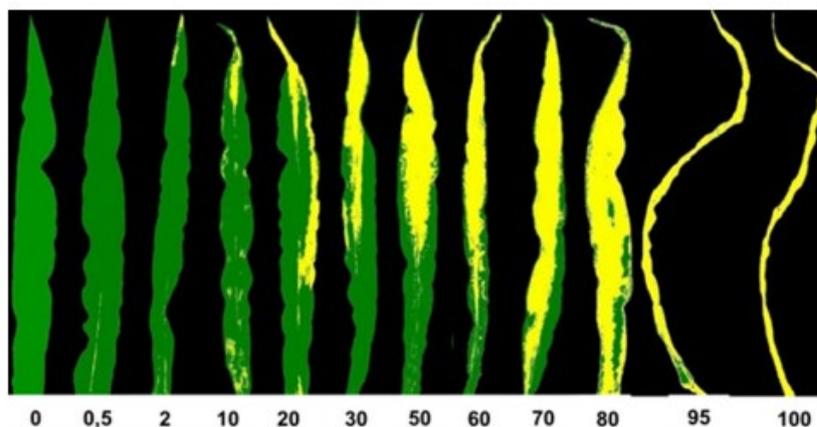
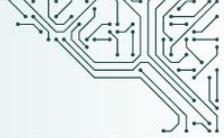


Figura 1. Escala diagramática da antracnose em folhas do milho causada por *Colletotrichum graminicola* de acordo com o programa Quant. Ponta Grossa-PR.

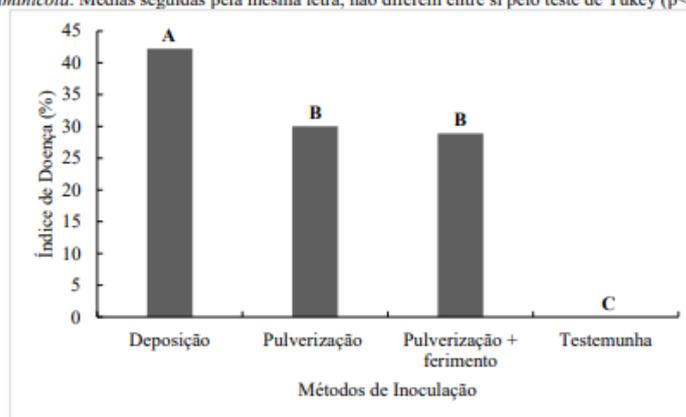
Fonte: TROJAN; PRIA, 2018.



3.9 Métodos de inoculação de *Colletotrichum graminicola* em folhas de milho

Para o controle da antracnose foliar do milho (*Zea mays*) (*Colletotrichum graminicola*) é utilizado método de materiais genéticos resistentes, logo, torna-se necessário a busca por determinar o método mais eficiente e prático para a inoculação de *C. graminicola* em folhas de milho. Para esse propósito, foi conduzido um experimento em câmara de crescimento, utilizando a linhagem endogâmica (L95-1). Em vista disso, o melhor método de inoculação de *C. graminicola* em folhas de milho foi através da deposição da suspensão de conídios no cartucho (ID de 42,22%) (Figura 3), visto que possibilitou o maior desenvolvimento da antracnose foliar na linhagem suscetível. Além disso, este método apresenta potencial de identificação de novas fontes de resistência, estudos de variabilidade patogênica de *C. graminicola* foliar em milho (FINGER, A. C.; MATIELLO, R. R.; PRIA, M. D., 2022).

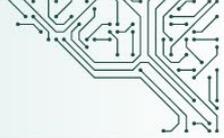
Figura 3 - Índice de doença (ID) para os métodos de inoculação das folhas de milho com *Colletotrichum graminicola*. Médias seguidas pela mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).



Fonte: FINGER, A. C.; MATIELLO, R. R.; PRIA, M. D., 2022.

4. CONCLUSÃO

A antracnose é uma doença que afeta muitos os produtores rurais brasileiros, principalmente as culturas de milho e soja que tiveram grandes prejuízos em suas lavouras. Por esse motivo foram estudados diferentes métodos para controle da antracnose e o teste de resistência desse patógeno e dentre os estudados o que mais se mostrou eficiente foi o método de inoculação de *C. graminicola* em folhas de milho que foi através da deposição da suspensão de conídios no cartucho, onde inocula a *C. graminicola* esse estudo ainda apresenta potencial na identificação de possíveis novas resistências, possibilitando a descoberta de novos tratamentos e possíveis redução no custo de produção dos produtores rurais.



REFERÊNCIAS

ANTRACNOSE: prevenção evita perdas na produção agrícola. **TERRA MAGNA**, 2022. Disponível em: <<https://terramagna.com.br/blog/antracnose/>>. Acesso em: 10 de outubro de 2022.

BRASIL é destaque mundial na produção de milho. **Mais Soja**, 2022. Disponível em: <<https://maissoja.com.br/brasil-e-destaque-mundial-na-producao-de-milho/>>. Acesso em: 17 de outubro de 2022.

COTA, L. V.; COSTA, R. V. da; 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, n. 11/12, p. 680-684, 2012. DOI: 10.1111/jph.12008.

CHAGAS, J. ET AL. ADUBAÇÃO NITROGENADA NA SEVERIDADE DE DOENÇAS FOLIARES, PRODUTIVIDADE E RESPOSTAS BIOQUÍMICAS EM HÍBRIDOS DE MILHO. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, 2018. Disponível em: <<http://rbms.cnpms.embrapa.br/index.php/ojs/article/view/734>>. Acesso em: 05 de dezembro de 2022.

CHINELATO, Gressa. Antracnose nas culturas de grãos: como controlar de modo eficaz. **aegro**, 2019. Disponível em: <<https://blog.aegro.com.br/antracnose/>> Acesso em: 16, novembro de 2022.

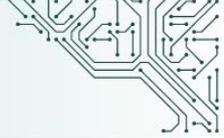
CROUCH, J. A.; BEIRN, L. A. **Anthracnose of cereals and grasses**. Fungal Diversity, Chiang Mai, v. 39, p. 19-44, 2009.

DESCUBRA a Origem do Milho. **AGRO PÓS**, [entre 2019 e 2021]. Disponível em: <<https://www.agropos.com.br/origem-do-milho/#:~:text=No%20cen%C3%A1rio%20mundial%20o%20Brasil%20tem%20se%20destacado,mesmo%20que%20os%20colonizadores%20adentrassem%20em%20nosso%20territ%C3%B3rio>>. Acesso em: 17 de outubro de 2022.

FINGER, A. C.; MATIELLO, R. R.; PRIA, M. D. Métodos de inoculação de *Colletotrichum graminicola* em folhas de milho / Inoculation methods of *Colletotrichum graminicola* on maize leaves. **Brazilian Journal of Development**, [S. l.], v. 8, n. 6, p. 48634–48644, 2022. DOI: 10.34117/bjdv8n6-393. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/49817>. Acesso em: 9 nov. 2022.

GOMES, Irene. Valor de produção bate recorde, mas safra 2021 não supera ano anterior. **Agência de notícias IBGE**, 2022. Disponível em: <<https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-de-noticias/noticias/34943-valor-de-producao-bate-recorde-mas-safra-2021-nao-supera-ano-anterior#:~:text=J%C3%A1%20o%20valor%20da%20produ%C3%A7%C3%A3o,R%24%20116%2C4%20bilh%C3%B5es>>. Acesso em: 16, novembro de 2022.

MARTINS, Cauan. A antracnose na cultura do milho. **Mais Soja**, 2022. Disponível em: <<https://maissoja.com.br/a-antracnose-na-cultura-do-milho/>>. Acesso em: 17 de outubro de 2022.



MIRANDA ET AL., Comparative transcriptomic analysis indicates genes associated with local and systemic resistance to *Colletotrichum graminicola* in maize. **Scientific Reports**, 2017. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41598-017-02298-8>>. Acesso em: 05 de dezembro de 2022.

NICOLI, A. COSTA R. V.; COTA L. V. et al. **Validação de escala diagramática para quantificação da severidade da antracnose do colmo do milho**. *Ciência Rural*, v.45, n.10, out, 2015. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/cr/a/fzgjTJrCNJtyLcWRhc93WcF/?format=pdf&lang=pt>>. Acesso em: 11 nov. 2022.

NICOLI, A.; ZAMBOLIN, L.; COSTA, R. da; COTA, L. V.; SILVA, D. *Colletotrichum graminicola* from leaves or stalks are similarly aggressive in cross-tissue inoculation of five maize hybrids. **EMBRAPA**, 2016. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1034997/colletotrichum-graminicola-from-leaves-or-stalks-are-similarly-aggressive-in-cross-tissue-inoculation-of-five-maize-hybrids>>. Acesso em: 05 de dezembro de 2022.

NOSSOS produtos - milho. **SLC Agrícola**, 2018. Disponível em: <<https://www.slcagricola.com.br/produtos/milho/>>. Acesso em: 16 de novembro de 2022.

PRINCIPAIS doenças foliares na cultura do milho. **IZI GESTÃO AGRO**, 2022. Disponível em: <<https://izi.agr.br/principais-doencas-foliares-na-cultura-do-milho/>>. Acesso em: 10 novembro de 2022.

PRODUÇÃO de grãos atinge recorde na safra 2021/22 e chega a 271,2 milhões de toneladas. **CONAB**, 2022. Disponível em: <[https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/4744-producao-de-graos-atinge-recorde-na-safra-2021-22-e-chega-a-271-2-milhoes-de-toneladas#:~:text=A%20produ%C3%A7%C3%A3o%20brasileira%20de%20gr%C3%A3os,Nacional%20de%20Abastecimento%20\(Conab\)](https://www.conab.gov.br/ultimas-noticias/4744-producao-de-graos-atinge-recorde-na-safra-2021-22-e-chega-a-271-2-milhoes-de-toneladas#:~:text=A%20produ%C3%A7%C3%A3o%20brasileira%20de%20gr%C3%A3os,Nacional%20de%20Abastecimento%20(Conab))>. Acesso em: 17 de outubro de 2022.

Trojan, D.G.; Dalla Pria, M.; Castro, A. Validação de escala diagramática para quantificação da severidade da antracnose da folha do milho. **Summa Phytopathologica**, v.44, n.1, p.56-64, 2018.