

LEONARDO GIANASI

AGRESSIVIDADE E RAÇAS FISIOLÓGICAS DE *Exserohilum turcicum* COLETADOS
EM REGIÕES PRODUTORAS DE MILHO NO BRASIL, SAFRA 93/94.

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras
como parte das exigências do Curso de Pós-graduação em
Agronomia, área de concentração em Fitossanidade, Sub-área
de concentração em Fitopatologia, para obtenção do título de
Mestre.

Orientador

Prof. HILÁRIO ANTÔNIO DE CASTRO

LAVRAS - MINAS GERAIS - BRASIL

1996

Gianasi, Leonardo

Agressividade e raças fisiológicas de *Exserohilum turcicum* coletados em regiões produtoras de milho no Brasil, safra 93/94 / Leonardo Gianasi.--

Lavras: UFLA, 1996.

40 p. il.

Orientador: Hilário Antônio de Castro

Dissertação (Mestrado) - UFLA.

Bibliografia.

1. *Exserohilum turcicum*. 2. Raças fisiológicas. 3. Agressividade. 4. milho-doença fúngica. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD - 632.44

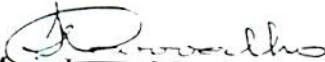
- 633.15944

LEONARDO GIANASI


AGRESSIVIDADE E RAÇAS FISIOLÓGICAS DE *Exserohilum turcicum* COLETADOS
EM REGIÕES PRODUTORAS DE MILHO NO BRASIL, SAFRA 93/94.

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras
como parte das exigências do Curso de Pós-graduação em
Agronomia, área de concentração em Fitossanidade, Sub-área
de concentração em Fitopatologia, para obtenção do título de
Mestre.

APROVADA em 30 de janeiro de 1996


Maria Laene Moreira de Carvalho


Paulo Estevão de Souza


Prof. Hilário Antônio de Castro
(Orientador)

Ao meu pai, Eduardo Gianasi

A minha mãe, Lourdes M. da Glória Campagnaro Gianasi

Ao meu irmão, Eduardo Jr.

OFEREÇO

Aos meus pais, Lourdes e Eduardo Gianasi

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras, em especial ao Departamento de Fitossanidade, pela oportunidade concedida para a realização deste curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor Hilário Antonio de Castro, pela orientação.

Ao pesquisador Herberto Pereira da Silva da Sementes Agrocere S.A., pela co-orientação e doação das sementes necessárias.

Aos professores e funcionários do Departamento de Fitossanidade da UFLA, em especial a Eloisa, Psida, Ana, Cleber, Eliana, Lisiane, Carlos, Antônio Carlos e em super especial Maria de Lourdes.

Aos colegas de pós-graduação Zilá, Regina, Ângela, Adriane, em especial Eduardo e Jamilson, e aos demais colegas pelo convívio e amizade.

A todos aqueles que direta e indiretamente participaram da realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	página
1 - INTRODUÇÃO.....	01
2 - REFERENCIAL TEÓRICO	03
3 - RAÇAS FISIOLÓGICAS DE <i>Exserohilum turcicum</i> COLETADOS EM REGIÕES PRODUTORAS DE MILHO NO BRASIL, SAFRA 93/94.....	14
4 - AGRESSIVIDADE DE ISOLADOS DE <i>Exserohilum turcicum</i> RAÇA 0 COLETADOS EM REGIÕES PRODUTORAS DE MILHO NO BRASIL, SAFRA 93/94.....	26
5- DISCUSSÃO GERAL	37

1. INTRODUÇÃO

Das espécies cultivadas pelo homem, o milho, apresenta-se como o mais cosmopolita, sendo amplamente disseminado por todo o mundo. (Osuma e Moro, 1995).

A importância do milho, destaca-se a nível de Brasil, por ser o cereal que ocupa a maior área cultivada do País; absorver grande número de trabalhadores rurais; e também por ser a base para formulação de rações para alimentação animal.

Dos 60 milhões de ha plantados anualmente cerca de 14 milhões de ha são ocupados pela cultura, gerando, por aproximadamente de 3 milhões de agricultores, uma produção de 36 milhões de toneladas/ano. Apesar de toda esta produção, a terceira maior mundial, a produtividade média brasileira varia de 2651 a 2127 Kg/ha, o que é considerado extremamente baixa (MAARA, 1995). Como causas desta baixa produtividade tem-se que muitos agricultores dispensam baixa tecnologia à cultura. Outro fator que contribui para severas reduções de produtividade é a suscetibilidade que as cultivares ou híbridos comerciais apresentam perante algumas doenças (Vitti, 1993).

Recentemente as doenças assumiram maior destaque no cenário pois os cultivos em extensas áreas, cultivos de safrinha e cultivos irrigados, favoreceram a concentração de inóculo no campo, permitindo o aparecimento de novas raças do patógeno. (Pereira, 1995).

Dentre as principais doenças que afetam a cultura tem-se as ferrugens causadas por *Puccinia sorghi*, *Puccinia polysora* e *Physopella zae*; Mancha de *Phaeosphaeria* causada por *Phaeosphaeria maydis*; Corn stunt (enfazamento do milho), causado por um complexo de micoplasma, espiroplasma e possivelmente vírus; e queima das folhas causadas por

Helminthosporium maydis, *Helminthosporium carbonum* e *Exserohilum turcicum* (Pereira, 1995).

Dentre estas doenças, destaca-se helmintosporiose ou queima das folhas do milho, que tem como agente causal *Exserohilum turcicum*, pois é de ocorrência mais generalizada, sendo capaz, de afetar qualitativa e quantitativamente a produção de milho (Lopes, 1987), além de predispor a planta a podridões do colmo causados por *Diplodia maydis*.

As características que a cultura apresenta, como porte da planta, extensões de plantios e a própria economicidade, fazem com que o controle das doenças do milho sejam alcançadas através de programas de melhoramento visando resistência a doenças, pois o controle químico pode mostrar-se viável apenas em campos de produção de sementes.

Num programa de melhoramento é importante conhecer os tipos de resistência envolvidos no sistema patógeno-hospedeiro, bem como ter o mais amplo conhecimento da variabilidade e nível de agressividade do patógeno, para assim, se poder, assegurar maior eficiência e ou durabilidade aos híbridos e linhagens comerciais, tidas como resistentes.

O objetivo deste trabalho é detectar, no Brasil, a possível existência de variabilidade genética do patógeno *Exserohilum turcicum*, através da caracterização de suas raças fisiológicas, e ou a detecção de diferentes agressividades dentro dos grupos de raças identificados. A partir desta caracterização, espera-se poder contribuir para um melhor direcionamento do melhoramento de milho visando resistência a doenças.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Agente causal:

A queima das folhas do milho, helmintosporiose ou "Northern Leaf Blight" tem como agente causal o fungo, *Exserohilum turcicum* (Pass.) Leonard e Suggs. Seus conídios são cinza esverdeado, de forma alongada, apresentando curvatura em seus lados, com média de 105 x 20 micras de tamanho, de um a nove septos e hilo protuberante (Ullstrup, 1954). O estágio sexual do patógeno corresponde a *Setosphaeria turcica* (Luttrell) Leonard e Suggs) (Frederiksen, 1991).

A queima das folhas do milho foi descrita pela primeira vez em 1876 na Itália, por Passerini, que denominou a doença por "nebbia", tendo por volta de 1923 já sido relatada nos EUA, Filipinas, Japão, Índia, África do Sul e Rússia (Dreschsler, 1923), alcançando a Argentina em 1939 (Campi, 1939). No Brasil o patógeno foi constatado pela primeira vez na região de Ribeirão Preto no Estado de São Paulo (Viegas, 1946). Atualmente a doença pode ser considerada um problema fitossanitário em todas as regiões produtoras de milho no País, principalmente na região Sul e nas chapadas da região Centro-Oeste (Pereira, 1995).

A classificação do patógeno ainda não é mundialmente aceita (Esteves, 1989), e baseia-se nos desmembramentos que ocorreram no gênero *Helminthosporium*: Hughs, (1958) citado por Muchovej; Muchovej e Ribeiro-Nesio (1988), propôs que as espécies de *Helminthosporium* que apresentavam conidióforos geniculados e conídios cilíndricos a obclavados fossem agrupados como gênero *Drechslera*. Mais tarde, Shoemaker, (1959) citado por Muchovej; Muchovej e Ribeiro-Nesio (1988), separou deste grupo as espécies que possuíam conídios obclavados e que

somente produziam tubos germinativos a partir dos polos, constituindo o gênero *Bipolaris*, restando ao gênero *Drechslera*, as espécies que produziam conídios cilíndricos que podiam germinar lateralmente. As espécies que produziam um hilo protuberante foram agrupadas no gênero *Exserohilum* (Leonard e Suggs, 1974 citados por Muchovej; Muchovej e Ribeiro-Nesio, 1988). Portanto somente as espécies que apresentam conidióforos retos, produzindo conídios por poros laterais, com conídios espessos na base, afinando ao ápice, permaneceram no gênero *Helminthosporium*. Uma revisão mais complexa foi publicada por Alcorn (1988), na qual se encontra detalhadamente explicadas estas reclassificações.

Neste trabalho optou-se por denominar o patógeno por *Exserohilum turcicum*, por ser esta a terminologia mais aceita e usada atualmente.

2.2 Sintomatologia da doença:

Os sintomas iniciais da enfermidade podem ser identificados facilmente como pequenas lesões de forma quase oval, as quais progridem formando lesões necróticas fusiformes (De Leon 1978, citado por Esteves, 1989).

Segundo Balmer (1980), a doença inicia-se nas folhas inferiores, progredindo para a parte superior da planta. As lesões caracterizam-se por serem de formato elíptico alongado, variando de 2,5 a 15 centímetros de comprimento. Os tecidos necrosados, em reações de susceptibilidade, apresentam uma coloração que pode variar de verde-cinza a marrom. Conforme Ullstrup, (1954) os esporos são produzidos abundantemente nas superfícies das lesões.

Normalmente as espigas não são afetadas pelo patógeno, porém lesões de *Exserohilum turcicum* podem formar-se do lado de fora, na palha da espiga.

Em casos severos da doença as plantas apresentam um grande número de lesões, podendo resultar na morte prematura das plantas.

2.3 Condições ambientais propícias à doença:

Tem-se como condições ótimas a doença, temperaturas moderadas, alta umidade relativa e baixa luminosidade (Balmer, 1980). Levy (1991), relata temperaturas de 20 a 25°C e 90 a 100% de umidade relativa como fatores propícios ao desenvolvimento de epidemias a nível de campo. Em ambiente controlado, Thakur; Leonard e Leath (1989), demonstraram que menores intensidades luminosas, 25 ou 12 klux, favorecem a enfermidade.

Em áreas sujeitas a temperaturas elevadas e baixa umidade o desenvolvimento de epidemias pode ser retardado ou paralisado (Balmer, 1980). Andrew; Rawe e Delke (1964), cita como imprescindível a presença de muito orvalho para bom desenvolvimento da doença.

2.4 Danos provocados pela doença:

Segundo Esteves (1989) embora a queima das folhas seja de ocorrência esporádica, sob condições favoráveis podem haver sérios prejuízos à cultura, principalmente em cultivares suscetíveis.

A magnitude da redução de produção causada por *Exserohilum turcicum* depende de dois fatores: do estágio de crescimento da planta quando ocorre infecção e da severidade da doença.

Quando a infecção inicia-se antes da floração, ocorrem as maiores perdas de produção que podem atingir de 20 a 30%. Entretanto quando a infecção inicia-se após o florescimento, não ocorrem perdas significativas de produção (Ullstrup, 1963).

Buscando verificar a eficiência de híbridos resistentes, Ullstrup e Milles (1957), verificaram em seus experimentos que o híbrido que apresentou maior eficiência foi capaz de produzir 4,3 ton/ha a mais do que o material mais sensível.

Comparando-se híbridos com resistência monogênica a híbridos de resistência poligênica, Ullstrup (1970), observou que os híbridos com resistência poligênica e monogênica foram capazes de produzir respectivamente 3,9 e 2,6 ton/ha a mais que a testemunha.

Perkins e Pedersen (1987), estudaram híbridos com baixo, médio e alto nível de resistência a *Exserohilum turcicum*, comparando-os quanto a produtividade e o peso de 500 sementes. Os resultados demonstraram que houve reduções na produtividade que variaram entre 0 a 18%. Analisando-se o peso de 500 sementes a variação foi de 13 a 20%.

Bowen e Pedersen (1988), ao estudarem diferentes métodos de despendoamento, associados a incidência de helmintosporiose, observaram efeito aditivo entre o despendoamento e a helmintosporiose. Esta interação proporciona redução de área foliar e conseqüentemente redução na produtividade, chegando a atingir de 32 a 44 % em linhagens suscetíveis.

Além das perdas diretas a queima das folhas do milho pode predispor as plantas a podridões do caule causados por *Diplodia maydis* (Raymundo e Hooker, 1981).

Dodd (1980), realizando inoculações artificiais de *Exserohilum turcicum* sobre plantas com diferentes níveis de resistência a helmintosporiose, observou uma correlação positiva entre a ocorrência de podridão do colmo e suscetibilidade de *Exserohilum turcicum*. Em plantas suscetíveis a *Exserohilum turcicum* encontrou-se 93% das plantas com podridões de colmo, enquanto que em plantas resistentes obteve apenas 3,3% de incidência. Na testemunha sem inoculação de *Exserohilum turcicum* não houve incidência de podridões do colmo.

2.5 Características e origem da resistência do milho a *Exserohilum turcicum*.

Basicamente são conhecidas dois tipos de resistência: qualitativa e quantitativa. Resistência quantitativa é de herança poligênica e caracteriza-se pela redução no número de lesões produzidas pelo patógeno. Este tipo de resistência predominou nos programas de melhoramento até a década de 60 (Smith e Kinsey, 1980), tendo a partir desta época,

predominado o uso da resistência monogênica ou qualitativa. A resistência qualitativa é induzida por meio de um gene simples dominante que expressa diferentes tipos de lesões. O gene Ht1 condiciona lesões cloróticas; os genes Ht2 e Ht3 condicionam lesões cloróticas com necrose; já o HtN prolonga a incubação e o período latente (Abadi, Levy e Bar-Tsur, 1989). A esporulação é suprimida ou atrasada por todos os Ht genes.

O gene Ht1 já é conhecido pelos melhoristas desde a década de 60. Segundo Hooker (1975), este gene teria originado das linhagens GE440 e Landyfinger; o gene Ht2 originado na linhagem Australiana NN14B; O gene Ht3 de *Tripsacum floridanum*, e o gene HtN na linhagem Africana B1138.

Os genes Ht segundo Lim et al. (1968) citados por Calub: Deenn e Routtey (1973) estão associados a produção de fitoalexinas, isoladas e designadas por A1 e A2. Estas fitoalexinas estariam envolvidas na inibição da germinação de esporos e no atraso de desenvolvimento do tubo germinativo.

2.6 Variabilidade do patógeno.

A existência de raças fisiológicas de *Exserohilum turcicum* é amplamente diagnosticada na literatura internacional, tendo ao que parece, até o momento sido relatado as raças 0, 1, 23, 2N e 23N (Leonard, Levy e Smith, 1989; Windes e Pedersen, 1991). Este sistema de nomenclatura de raças acompanha o sugerido por Leonard, Levy e Smith (1989), no qual o número da raça designa qual ou quais genes de resistência a raça é capaz de vencer. Dentre outras vantagens este sistema permita inclusão de novas raças que por ventura venham surgir, e também permite melhor visualização dos genes que condicionam resistência ou não, (genes efetivos/inefetivos), sendo portanto adotada neste trabalho.

A raça 0 caracteriza-se pela ausência de patogenicidade a plantas portadoras de qualquer um dos genes de resistência denominados de Ht. No ano de 1972 em campos de produção de

sementes no Hawaii, encontrou-se uma nova raça de *Exserohilum turcicum* capaz de causar patogenicidade em plantas portadoras do gene Ht1. Esta raça passou a ser designada raça 1 (Berquist e Masias, 1974 citados por Smith e Kinsey, 1980).

A raça 23 foi identificada a partir de culturas de milho proveniente da Carolina do Norte. Esta raça caracteriza-se por apresentar-se virulenta a plantas contendo os genes Ht2 e Ht3 (Smith e Kinsey, 1980).

A raça 2N foi identificada no ano de 1991 em Urbana no EUA, caracterizada por provocar susceptibilidade em planta portadora dos genes Ht2 e HtN (Windes e Pedersen, 1991).

A raça 23N provavelmente teria surgido do sul do Texas, sendo identificada por mostrar virulência as linhagens contendo os genes Ht2, Ht3 e HtN (Thakur, Leonard e Jones, 1989).

No Brasil, Almeida e Heidrich Sobrinho (1978), estudando o comportamento de linhagens de milho Rio Grandenses e Americanas perante 5 isolados de *Exserohilum turcicum* provenientes do Rio Grande do Sul, objetivaram detectar raças fisiológicas no País, porém a metodologia utilizada pelos autores não permitiu identificar as raças, mas indicou diversidade na agressividade dos isolados.

Já Heidrich Sobrinho e Hermes (1981), observaram comportamento diferenciado entre os isolados de *Exserohilum turcicum* sobre as 20 linhagens de milho testadas sugerindo a presença de raças fisiológicas do patógeno.

Esteves (1989), objetivando estudar a variabilidade patogênica de isolados de *Exserohilum turcicum* procedentes de várias regiões do País sobre diferentes fontes de resistência em milho, pode concluir que devem existir no mínimo 2 raças fisiológicas de *Exserohilum turcicum*.

2.7 Metodologia para detecção de variabilidade.

Normalmente para identificação de raças de *Exserohilum turcicum* tem-se utilizado linhagens ou híbridos indicadores. Nesta tarefa são necessário 5 indicadores, um suscetível ao

patógeno, um com o gene de resistência Ht1, um com o gene Ht2, um com o gene Ht3 e outro com o gene HtN. Segundo Thakur; Leonard e Jones (1989), a inoculação das plantas indicadoras pode ser realizada 19 dias após a sementeira, pulverizando-se as folhas com uma suspensão de 10^4 conídios/ml, utilizando-se de um atomizador. Após a inoculação, as plantas devem ser incubadas por 16 horas em câmara úmida escura, a uma temperatura de 22 °C. Em seguida retorna-se com as plantas para câmaras de crescimento onde após 14 dias as reações da doença já podem ser avaliadas, caracterizando-se como reações de suscetibilidade ou de resistência, e indiretamente a raça do patógeno.

Reuveni; Bar-Zur e Shimoni (1993), propuseram um método mais rápido para detecção de suscetibilidade ou resistência do hospedeiro. O método consiste em inocular a quarta folha da base para o ápice de plantas, no estágio de 5 folhas de crescimento com suspensão de 1×10^5 ou 2×10^5 conídios/ml. Para inoculação utiliza-se uma pistola quantitativa modificada, desenvolvida por J. Rotem (Schein, 1964 citado por Reuveni; Bar-Zur e Shimoni, 1993). A pistola é regulada em pressão e tempo para aplicar 0,1 ml da suspensão por cm^2 da folha. Após inoculação mantém-se um período de câmara úmida de 12 a 48 horas com 100% de UR e 20 °C. Após este período as plantas são mantidas em câmaras de crescimento a 25 °C e 16 horas de fotoperíodo. Os resultados podem ser observados 5 a 10 dias após a inoculação.

2.8 Condições que afetam a reação do hospedeiro:

Segundo Leonard, Levy e Smith (1989) a identificação de raças deve ser feita em plantas crescendo a uma temperatura próxima a 20 °C e intensidade de 25 a 50 Klux, isto porque as reações associadas com os genes Ht1, Ht2 e Ht3 são sensíveis a variação de temperatura e luz. Altas temperaturas de verão podem interferir na expressão de virulência a linhagens com os genes Ht1 e Ht3, enquanto que baixa intensidade de luz durante o inverno pode interferir com a expressão da resistência do gene Ht2.

A virulência da raça 1 é mais claramente expressada a 22/18 °C (temperatura do dia/noite) do que a 26/22 °C (Thakur, 1989 citado por Leonard, Levy e Smith 1989). Semelhantemente as raças 23 e 23N são virulentas a linhagem H4460 Ht3 e B37Ht3 a 22/18 °C, mas avirulentas a 26/22 °C, embora apresentem virulência normal a H4460 e B37 sem os Ht genes a 26/22 °C (Leath, Thakur e Leonard, 1987 e Thakur, et al., 1989 citados por Leonard, Levy e Smith, 1989). As linhagens H4460 Ht2 e B37 Ht2 resistem a raça 0 e raça 1 a 50 Klux mas não a 12 Klux, onde as plantas são completamente suscetíveis.

A raça 23 de *Exserohilum turcicum*, segundo Leath, Thakur e Leonard, (1987) é avirulenta a plantas de milho que possuem o gene Ht3 se as plantas estiverem crescendo a uma temperatura de 26/22 °C, mas apresenta-se virulenta sobre plantas com o gene Ht3 a 22/18 °C, particularmente a reduzidas intensidades de lux.

Thakur, Leonard e Leath, (1989) estudaram o efeito da temperatura e intensidade luminosa sobre a virulência da raça 1 de *Exserohilum turcicum*, a plantas de milho com o gene Ht1 de resistência, avaliando o efeito da mudança de 22/18 °C para 26/22 °C ou vice versa, em diferentes tempos. Treze dias após o plantio, plantas das linhagens H4460 e H4460 Ht1 foram levadas à câmaras de crescimento com 26/22 °C ou 22/18 °C. Dezenove dias após o plantio foram inoculadas pulverizando 10^4 conídios/ml, permanecendo em câmara úmida por 16 horas a 22 °C. As reações ao patógeno foram observadas 13 dias após a inoculação. Os autores observaram que a raça 1 foi virulenta a H4460 Ht1 a 22/18 °C, porém foi avirulenta a 26/22 °C. O isolado foi virulento a H4460 em ambas as condições.

Plantas da linhagem H4460 Ht1, que até a inoculação cresciam a 22/18 °C apresentaram-se resistentes a raça 1 se elas fossem transferidas para 26/22 °C até 3 dias após a inoculação, mas somente lesões do tipo suscetível desenvolveram daquelas plantas que permaneceram por um mínimo de 6 dias a 22/18 °C.

Plantas da linhagem H4460 Ht1 que cresceram a 26/22 °C até a inoculação com a raça 1 do patógeno, induziram uma mistura de sintomas intermediários e suscetíveis se fossem transferidas para 22/18 °C 6 ou mais dias após a inoculação. Se as plantas fossem transferidas

para temperaturas de 22/18 °C em até 3 dias após a inoculação somente lesões tipo susceptíveis desenvolviam.

Estes resultados demonstram que os genes Ht1, Ht2, Ht3 e possivelmente HtN, são termo sensíveis.

3. Literatura citada:

- ABADI, R.; LEVY, Y.; BAR-TSUR, A. Physiological races of *Exserohilum turcicum* in Israel. **Phytoparasitica**, v. 17, p. 23-30, 1989.
- ALCORN, J. L. The Taxonomy of *Helminthosporium* Species. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.26, p. 37-56. 1988.
- ALMEIDA, A. M. P.; HEIDRICH SOBRINHO, E. Raças Fisiológicas de *Helminthosporium turcicum*, Passerine, no Rio Grande do Sul. **Agronomia Subriograndense**, Porto Alegre, v. 14, n.2, p.285-290, 1978.
- ANDREW, R. H; ROWE, P.R.; OELKE, E. A. Certain Factors Influencing the Development of Northern Corn Leaf Blight Following Seedling Inoculation. **Crop Science**, Beltsville, v.4, p.4-7. 1964.
- BALMER, E. Doenças do Milho. In: GALLI, F (Coord.) **Manual de Fitopatologia**. 2.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980. v.2, p.371-391. 1980.
- BOWEN, K. L.; PEDERSEN, W. L. Effects of Northern Leaf Blight and Detasseling on Yields and Yields Components of Corn Inbreds. **Plant disease**, Beltsville, v. 72, p. 952-956. 1988.
- CALUB, A. G; DUNN, G. M.; ROUTLEY, D. G. Effets of Genetics Background on *Helminthosporium turcicum* in Maize (*Zea mays*, L.). **Crop Science**, Beltsville, v.13, p.561-563. 1973.
- CAMPI, M. D. *Helminthosporium turcicum* Pass. en la Republica Argentina. **Lilloa**, v. 4, p. 5-32. 1939.
- DOOD, J. L. The Role of Plant Stress in Development of Corn Stalk Rots. **Plant Disease**, Beltsville, v. 64, n. 6, p. 533-537. 1980.

- DRECHSLER, C. Some Graminicolous Species of *Helminthosporium*. **Indian Journal of Agricultural Researt**, v.24, p.641-739. 1923.
- ESTEVEZ, M. C. F. **Reações a *Exserohilum turcicum* (Pass.) Leonard & Suggs em milho (*Zea mays* L.) e variabilidade do patógeno**. Piracicaba: ESALQ, 1989. 55p. (Tese Mestrado em Genética).
- FREDERIKSEN, R. A. **Compedium of Sorgh Disease**. St. Paul: American Phytopathology Society, 1991.
- HEIDRICH SOBRINHO, E.; HERMES, M. T. L. Studies of Genetic Resistance to and Virulence of *Trichometasphaeria turcica* Lutt in corn. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 4, n. 1, p.17-28, 1981.
- HOOKE, A. L. *Helminthosporium turcicum* as a Pathogen of Corn. **Reporter Tottori Mycology Institute** v.12, p.115-125. 1975.
- LEATH, S; THAKUR, R. P.; LEONARD, K. J. Effects os Temperature and Light on Reaction of Corn to Race 3 of *Exserohilum turcicum*. **Phytopathology**, St. Paul, v.77, p.1737. 1987. (Abst.)
- LEONARD, K, J; LEVY; SMITH, D. R. Proposed Nomeclature for pathogenic Races of *Exserohilum turcicum* On Corn. **Plant Disease**. Beltsville, v.73, p.776-777. 1989.
- LEVY, Y. Variation in Fitness Among Field Isolates of *Exserohilum turcicum* in Israel. **Plant Disease**. Beltsville, v. 75, p. 163-166. 1991.
- LOPES, U. V. **Herança da resistência de milho a helminthosporiose *Exserohilum turcicum* nas fases de plântula e planta adulta**. Viçosa: UFV, 1987. 130p. (tese Mestrado em genetica).
- MINISTERIO DA AGRICULTURA DO ABASTECIMENTO E REFORMA AGRÁRIA. **Previsão e Acompanhamento de Safras**. Ministério da Agricultura do Abastecimento e da Reforma Agrária. 1995, P.7. (Documento, 14).
- MUCHOVEJ, J. J; MUCHOVEJ, R. M. C.; RIBEIRO-NESIO, M. L. Taxonomia de *Drechslera*, *Bipolaris* e *Exserohilum*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.13, p.211-223. 1988.
- OSUMA, J. A.; MORO, J. R. **Produção e Melhoramento do Milho**. Jaboticabal: Funep, 1995. 276p
- PEREIRA, O. A. P. Análise da Situação Atual de Doenças de Milho no Brasil e Disponibilidade de Germoplasma Resistente. **Summa Phytopathológica**, Jaguariúna, v.21, n.1, p.67-70. 1995.

- PERKINS, J. M.; PEDERSEN, W. L. Disease Development and Yield Losses Associated with Northern Leaf Blight on Corn. **Plant Disease**, Beltsville, v.71, p.940-943. 1987.
- RAYMUNDO, A. D.; KOOKER, A. L. Measuring the Relationship Between Northern Corn Leaf Blight and Yield Losses. **Plant Disease**, Beltsville, v.65, p.325-327. 1981.
- REUVENI, R; BAR-ZUR, A.; SHIMONI, M. A Rapid Detection Procedure for the HtN Gene Under Controlled Inoculation of Maize With *Exserohilum turcicum*. **Plant Disease**, Beltsville, v.77, p.580-582. 1993.
- SMITH, D. R.; KINSEY, J. G. Further Physiological Specialization in *Helminthosporium turcicum*. **Plant Disease**, Beltsville, v. 64, p.779-781. 1980.
- THAKUR, R. P; LEONARD, K.J.; JONES, R. K. Characterization of a New Race of *Exserohilum turcicum* Virulent on Corn With Resistance Gene HtN. **Plant Disease**, Beltsville, v. 71, p.151-155. 1989.
- THAKUR, R. P; LEONARD, K. J.; LEATH, S. Effects of Temperature and Light on Virulence of *Exserohilum turcicum* on Corn. **Phytopathology**, St. Paul, v.79. p.631-635, 1989.
- ULLSTRUP, A. J. A Comparison of Monogenic and Poligenic Resistance to *Helminthosporium Turcicum* in Corn. **Phytopathology**, St. Paul, v.60, n.11, p.1598-1599. 1970.
- ULLSTRUP, A. J. *Helminthosporium* Diseases on Corn. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, v.22, n.8, p.118-119. 1954.
- ULLSTRUP, A. J. Sources of resistance to northern corn leaf blight. **Plant Disease Reporter**. Beltsville, v.47, p.107-108. 1963.
- ULLSTRUP, A.J.; MILES, S. R. The effects of some leaf blight of corn on grain yield. **Phytopathology**, St. Paul, v.47, p.331-336. 1957.
- VITTI, A. J. **Epidemiologia comparativa entre a ferrugem comum (*Puccinia sorghi* Schweinitz) e a helmintosporiose (*Exserohilum turcicum* (Passerini) Leonard & Suggs do milho (*Zea mays*, L.).** Piracicaba: ESALQ, 1993. (Tese Mestrado em Fitopatologia).
- VIEGAS, A. P. Alguns fungos do Brasil. **Bragantia**. São Paulo. v.6, p.353-344. 1946.
- WINDES, J. M.; PEDERSEN, W. L. An Isolate of *Exserohilum turcicum* Virulent on Maize With Resistance Gene HtN. **Plant Disease**, Beltsville, v.75, n.4, p.430. 1991.

**RAÇAS FISIOLÓGICAS DE *Exserohilum turcicum* COLETADOS EM REGIÕES
PRODUTORAS DE MILHO NO BRASIL, SAFRA 93/94.**

LEONARDO GIANASI¹; HILÁRIO A. DE CASTRO¹ E HERBERTE P. DA SILVA².

1-UFLA, caixa posta 37, 37200-000, Lavras, MG, Brasil

2-Sementes Agroceres S.A.

RESUMO

Durante a safra 93/94, obteve-se, de algumas das principais regiões produtoras de milho no País, 25 isolados de *Exserohilum turcicum*, os quais foram inoculados nas linhagens diferenciadoras B37 Ht1, B37 Ht2, A619 Ht3, B37 HtN e M64, objetivando-se a identificação de raças fisiológicas. A partir das reações produzidas nas plantas indicadoras pode-se caracterizar as raças 0, 2, 3, N, 1N, 2N, 3N, 12N, 23N e 123N.

Palavras chaves: Milho, *Exserohilum turcicum*, Raças fisiológicas, Helminthosporiose

**PHYSIOLOGICAL RACES OF *Exserohilum turcicum* OBTAINED FROM THE
PRODUCING REGIONS OF BRAZIL, 93/94 CROP.**

LEONARDO GIANASI¹; HILÁRIO A. DE CASTRO¹ E HERBERTE P. DA SILVA².

1-UFLA, caixa posta 37, 37200-000, Lavras, MG. Brasil

2-Sementes Agroceres S.A.

ABSTRACT

In the course of 93/94 crop, 25 isolates of *Exserohilum turcicum* were obtained from the main corn producing regions, to inoculate the inbreds line B37 Ht1, B37 Ht2, A619 Ht3, B37 HtN and M64 to identify the physiological races. From the reactions obtained in the corn inbreds, it was possible to define the races 0, 2, 3, N, 1N, 2N, 3N, 12N, 23N and 123N.

Key words: Corn, *Exserohilum turcicum*, Physiological races, Northern Leaf Blight.

1. INTRODUÇÃO

A queima das folhas do milho, helmintosporiose ou Northern Leaf Blight, tem como agente causal *Exserohilum turccicum* (Pass.) Leonard e Suggs, que no Brasil é responsável por uma das principais doenças foliares do milho (Pereira, 1995). A enfermidade caracteriza-se por causar nas folhas do milho, lesões necróticas, elípticas, alongadas alcançando de 2 a 15 centímetros de comprimento (Balmer, 1980).

Em condições de temperaturas moderadas, ao redor de 20 a 25 °C, 90 a 100 % de umidade relativa, e baixa luminosidade (Levy, 1991), severas epidemias do patógeno podem ocorrer, causando reduções de 20 a 30 % na produtividade da cultura (Ullstrup, 1963). No Brasil, epidemias ocorrem com frequência na região Sul e nas chapadas da região Centro-Oeste, causando severos prejuízos aos produtores locais.

Devido a características peculiares da cultura, como porte da planta, extensão da área de plantio e a própria rentabilidade econômica, tem-se como medida mais viável para controle da doença, o uso de resistência genética, pois o controle químico pode se mostrar viável apenas em campos de produção de semente.

Para se obter bons resultados num programa de melhoramento visando resistência a doenças, deve-se conhecer bem os tipos de resistência envolvidos na interação patógeno-hospedeiro, bem como ter um profundo conhecimento da variabilidade e nível de agressividade do patógeno, para assim se conseguir maior eficiência e durabilidade aos materiais lançados no mercado.

Internacionalmente já se caracterizou a variabilidade do patógeno, através da identificação de suas raças fisiológicas. Até o momento já se tem identificado, segundo o sistema de classificação proposto por Leonard, Levy e Smith (1989), as raças 0, 1, 23, 2N e 23N (Windes e Pedersen, 1991).

No Brasil, Almeida e Heidrich Sobrinho (1978), estudaram o comportamento de algumas linhagem de milho perante cinco isolados de *Exserohilum turcicum* originário do Rio Grande do Sul, objetivando detectar raças fisiológicas no País, porém a metodologia utilizada pelos autores só permitiu detectar diferenças na agressividade dos isolados. Posteriormente, Heidrich Sobrinho e Hermes (1981), observaram o comportamento diferenciado entre isolados de *Exserohilum turcicum* sobre 20 linhagens de milho, sugerindo a presença de raças fisiológicas do patógeno. Recentemente, Esteves (1989), estudou a variabilidade patogênica de isolados de *Exserohilum turcicum* procedentes de várias regiões do País sobre diferentes fontes de resistência em milho, concluindo que em nossas condições devem existir pelo menos duas raças do patógeno.

O objetivo deste trabalho foi detectar, no Brasil, a existência de variabilidade genética do patógeno *Exserohilum turcicum*, através da caracterização de suas raças fisiológicas e auxiliar os fitomelhoristas no direcionamento do melhoramento da cultura, visando resistência a doenças.

2. MATERIAL E MÉTODOS

~~Durante a safra 93/94~~, coletou-se de algumas das principais regiões produtoras de milho no País, amostras de tecido foliar com lesões típica de *Exserohilum turcicum*. Em seguida, procedeu-se a herborização do material coletado, através da prensagem e desidratação dos tecidos. As amostras herborizadas foram encaminhadas para laboratório onde procedeu-se o isolamento do patógeno.

A técnica utilizada no isolamento consistiu em retirar das lesões, fragmentos de aproximadamente 3 x 3 mm, os quais foram submetidos a uma desinfestação superficial, através

de imersão em álcool 50 % por 1 minuto, hipoclorito de sódio 1 % por 1 minuto e triplíce lavagem em água destilada esterilizada. Após desinfestadas as amostras de tecido foliar foram plaquedas em meio de cultura BDA, de onde se selecionou culturas puras do patógeno que foram mantidas em tubos de ensaio. Foram obtidos 25 isolados provenientes de regiões produtoras de milho dos Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Minas Gerais e Mato Grosso do Sul (Tabela 01).

Para caracterização das raças fisiológicas de *Exserohilum turcicum*, inoculou-se os isolados nas linhagem diferenciadoras B37 Ht1, B37 Ht2, A619 Ht3, B37 HtN, com resistência monogênica ao patógeno, e M64, altamente susceptível. O experimento foi conduzido em casa de vegetação da Universidade Federal de Lavras-UFLA, em Lavras-MG, situada a 21° 14' 06" de latitude Sul e 45° 00' 10" de longitude oeste. Em março de 1995 as linhagens foram plantadas em bandejas de isopor de 72 células, com 15 cm de profundidade. O plantio deu-se em colunas alternadas, iniciando-se o plantio na segunda coluna, e em seguida pulando-se duas colunas antes do plantio da coluna seguinte. Utilizou-se como substrato para plantio casca de arroz carbonizada e Plantmax misturados em proporção 1:1. Para cada linhagem utilizou-se seis repetições, sendo cada parcela constituída de uma planta.

Antes da instalação do experimento procedeu-se o revigoramento da patogenicidade dos isolados através da inoculação na linhagem de milho susceptível, F 64.

A produção de inóculo originou-se a partir da multiplicação dos isolados em meio de Lactose Caseína Hidrolizada (Tuite, 1969), de modo semelhante ao utilizado por Vitti et al. (1995). Em culturas com 20 dias de idade adicionou-se 5 ml da solução de 2 gotas de Tween 80 em 100 ml de água destilada esterilizada, raspando-se delicadamente as culturas com auxílio de um bisturi. Após o desalojamento dos conídios procedeu-se a filtragem da suspensão em gaze. Finalmente padronizou-se o inóculo em 3000 esporos por ml, utilizando-se para isto da contagem de esporos em Hemocitômetro (Vitti et al., 1995).

TABELA 01- Origem dos isolados de *Exserohilum turcicum* utilizados para caracterização de suas raças fisiológicas. UFLA-Lavras-MG, 1996.

ISOLADO	ESTADO	LOCAL DE ORIGEM
I - 01	MS	Dourados
I - 10	RS	Carazinho
I - 12	RS	Ibirubá
I - 17	SP	Santa Cruz das Palmeiras
I - 18	SP	Santa Cruz das Palmeiras
I - 19	PR	Bandeirantes
I - 21	PR	Castro
I - 23	PR	Castro
I - 24	PR	Guarapuava
I - 25	PR	Jacarezinho
I - 29	PR	Jacarezinho
I - 30	PR	Manguerinha
I - 32	PR	Pato Branco
I - 33	PR	Pato Branco
I - 34	PR	Pato Branco
I - 35	PR	Sertanópolis
I - 36	PR	Missal
I - 37	PR	Mal. Candido Rondon
I - 38	PR	Manoel Ribas
I - 39	PR	São Miguel D'Oeste
I - 40	PR	Campo Mourão
I - 41	SC	Concórdia
I - 42	SC	Irani
I - 43	MG	Indianópolis
I - 44	MG	Sacramento

As plântulas foram inoculadas 20 dias após o semeio, estágio de crescimento I segundo Hanway (1963), atomizando-se sobre as plântulas a suspensão de esporos, com auxílio de um pulverizador manual de 1 litro, até o ponto de início de escorrimento.

Após a inoculação submeteu-se as plântulas a um período de 16 horas de câmara úmida escura, conforme metodologia adaptada de Thakur, Leonard e Jones (1989), sendo em seguida transferidas para casa de vegetação onde permaneceram sobre sombrite 50 % por 14 dias, ocasião em que se procedeu a avaliação das reações das linhagens, considerando-se para tanto a quarta folha formada.

Na avaliação da reação das plantas utilizou-se de uma escala para avaliação de resistência e susceptibilidade adaptada de Esteves (1989), onde designou-se R+ para plantas limpas ou apresentando pontos cloróticos, R para plantas com lesões cloróticas estreitas, S para plantas com lesões clorótico-necróticas de formato circular e S+ para lesões necróticas largas, com ou sem murcha e ou secamento de extremidade de folhas. Para caracterização das raças considerou-se o predomínio do tipo de reação por linhagem, quando houve segregação dentro das repetições. As reações caracterizadas como R+ e R foram consideradas como plantas resistentes, ao passo que nas reações S e S+, considerou-se as plantas como susceptíveis.

Registrou-se ainda a temperatura máxima e mínima da casa de vegetação e da câmara úmida, após a inoculação das plântulas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As reações das plantas inoculadas permitiram detectar a presença de algumas raças fisiológicas. Na tabela 02 pode-se observar o tipo de reação produzido por cada indicadora inoculada, bem como a caracterização da raça.

Estes resultados demonstram que além das raças 0, 23N e 2N, já relatadas internacionalmente (Leonard, Levy e Smith, 1989; Winds e Pedersen, 1991), em nosso País existe maior variabilidade. Esta diversidade vem confirmar as proposições de Almeida e Heidrich

Sobrinho (1978); Heidrich Sobrinho e Hermes (1978) e Esteves (1989), os quais indicam a existência de extensa variabilidade genética do patógeno.

TABELA 02 - Reação das linhagens indicadoras B37 Ht1, B37 Ht2, A619 Ht3, B37 HtN e M 64, inoculadas com 25 isolados de *Exserohilum turcicum*, provenientes de diferentes regiões do Brasil. UFLA-Lavras-MG, 1996.

Isolado	B37 Ht1	B37 Ht2	A619 Ht3	B37 HtN	M 64	Raça
I - 01	R	R	R	R	S	0
I - 10	R	R	R	S	S	N
I - 12	R	R	R	R	S	0
I - 17	R	R	R	R	S	0
I - 18	S	S	R	S	S	12N
I - 19	R	S+	S	S	S+	23N
I - 21	R	R	R	R	S	0
I - 23	R	S	R	R	S	2
I - 24	R	R	R	R	S	0
I - 25	R	S	R	R	S	2
I - 29	S+	S	S	S	S	123N
I - 30	R	R	R	S	S	N
I - 32	R+	S	R	S	S	2N
I - 33	R	R	R	R	S	0
I - 34	S	R	R	S	S	1N
I - 35	R	R	R	R	S	0
I - 36	R	S	R	R	S	2
I - 37	R	R	R	S+	S+	N
I - 38	R	R	R	R	S	0
I - 39	R	R	S+	S+	S+	3N
I - 40	R	R	R	S	S	N
I - 41	R	S	R	R	S	2
I - 42	R	R	R	S	S	N
I - 43	R	R	S	R	S	3
I - 44	S+	S	R	S	S	12N

Ao se avaliar as condições térmicas pós inoculação pode-se observar como média das temperaturas máximas e mínimas 28,9 e 19,5 °C respectivamente. A evolução diária das temperaturas máximas e mínimas no pós inoculação estão apresentadas na Tabela 03.

Segundo Leonard, Levy e Smith (1989), o ideal na caracterização de raças, é trabalhar em temperaturas próximas de 20 °C. Durante a condução do ensaio não foi possível controlar a temperatura, atingindo patamares superiores a 20 °C, sendo em média geral 24,2 °C. Esta temperatura mais elevada pode interferir na virulência a linhagens com os genes Ht1 e Ht3 (Leonard, Levy e Smith, 1989). Por outro lado, Carson e Van Dyke (1994) citam em seu trabalho, não ter problemas para obter patogenicidade em regimes térmicos elevados, ao redor de 30 / 26°C. Este fato deve-se, segundo os autores a uma pré aclimação dada as plantas, evitando-se choques térmicos provocados por mudanças abruptas de temperaturas realizadas em pós inoculação. Como neste trabalho, conseguiu-se patogenicidade a todos os genes de resistência, acredita-se que houve sucesso, conforme sugeriram Carson e Van Dyke (1994), em nossas condições, houve tempo para uma aclimação das plântulas as condições da casa de vegetação, de onde só saíram para submeter-se ao período de câmara úmida, na qual as temperaturas máximas e mínimas foram semelhantes as obtidas na casa de vegetação.

Além de ter sido caracterizado boa variabilidade genética do patógeno, ao se identificar as raças 0, 2, 3, N, 2N, 3N, 12N, 23N, 123N, pode-se afirmar que existe uma maior frequência e ou predomínio da raça 0. Este resultado indica que trabalhando-se com resistência qualitativa, qualquer dos genes Ht condicionará resistência na maioria dos locais de cultivo do milho no País. Por outro lado, observou-se também uma menor frequência de isolados que foram capaz de vencer a resistência condicionada pelo gene Ht1.

TABELA 03 - Temperaturas máximas e mínimas registradas no pós inoculação das linhagens diferenciadoras. UFLA-Lavras-MG, 1996.

Dias Após Inoculação	Temperatura Máxima °C	Temperatura Mínima °C
Câmara úmida	24	21
1	32	18
2	33	19
3	31	22
4	31	20
5	28	21
6	31	21
8	32	21
9	27	18
10	27	18
11	25	19
12	29	19
13	27	19
14	26	18
Avaliação	31	19

Apesar disto, epidemias ainda podem ocorrer, sendo causadas pelas raças 1N, 12N ou 123N. Porém conforme trabalhos de Leath e Pedersen (1986), no qual estudaram o efeito da raça 1 de *Exserohilum turcicum* sob linhagens com e sem o gene de resistência Ht1, as linhagens contendo o gene Ht1, apesar de suscetíveis, apresentaram menor número de lesões por planta, menores tamanhos de lesões e menor percentagem de área foliar necrosada.

Estes resultados permitem-nos sugerir a utilização, nos programas de melhoramento visando resistência a doenças, da resistência qualitativa oferecida pelo gene Ht1, pois mesmo nas poucas regiões de cultivo onde haveria quebra de resistência, epidemias nestes locais ainda seriam menos drásticas.

LITERATURA CITADA

- ALMEIDA, A. M. P.; HEIDRICH SOBRINHO, E. Raças Fisiológicas de *Helminthosporium turcicum*, Passerine, no Rio Grande do Sul. **Agronomia Subriograndense**, Porto Alegre, v. 14, n.2, p.285-290, 1978.
- BALMER, E. Doenças do Milho. In: GALLI, F (Coord.) **Manual de Fitopatologia**. 2.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980. v.2, p.371-391.
- CARSON, M. L.; VAN DYKE, C. G. Effect of Light and Temperature on Expression of Partial Resistance of Maize to *Exserohilum turcicum*. **Plant Disease**, Beltsville, v.78, n.5, p.519-522, 1994.
- ESTEVES, M. C. F. **Reações a *Exserohilum turcicum* (Pass.) Leonard & Suggs em milho (*Zea mays* L.) e variabilidade do patógeno**. Piracicaba: ESALQ, 1989. 55p. (Tese Mestrado em Genética).
- HANUWAY, J. J. Growth Satges of Corn (*Zea mays*, L.). **Agronomy Journal**, Madsson v. 55, n.5, p.487-492. 1963.
- HEIDRICH SOBRINHO, E.; HERMES, M. T. L. Studies of Genetic Resistance to and Virulence of *Trichometasphaeria turcica* Lutt in corn. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 4, n. 1, p.17-28, 1981.
- LEATH, S.; PEDERSEM, L. Differences in Resistance Between Hybrids With or Without the Ht1 Gene When Infected With *Exserohilum turcicum* Race 2. **Phytopathology**, St. Paul, v. 76, n. 3, p.257-260. 1986.
- LEONARD, K. J.; LEVY, Y.; SMITH, D. R. Proposed Nomenclature for Pathogenic Races of *Exserohilum turcicum* On Corn. **Plant Disease**, Beltsville, v.73, p.776-777. 1989.
- LEVY, Y. Variation in Fitness Among Field Isolates of *Exserohilum turcicum* in Israel. **Plant Disease**, Beltsville, v. 75, p. 163-166. 1991.
- PEREIRA, O. A. P. Análise da Situação Atual de Doenças de Milho no Brasil e Disponibilidade de Germoplasma Resistente. **Summa Phytopathológica**, Jaguariúna, v.21, n.1, p.67-70. 1995.
- THAKUR, R. P; LEONARD, K.J.; JONES, R. K. Characterization of a New Race of *Exserohilum turcicum* Virulent on Corn With Resistance Gene HtN. **Plant Disease**, Beltsville, v. 71, p.151-155. 1989.

- TUITE, J. **Plant Pathological Methods: Fungi and Bacteria**. Mineapolis: Burgess Publishing., 1969. 239p.
- ULLSTRUP, A. J. Sources of resistance to northern corn leaf blight. **Plant Disease reporter**, Beltsville, v.47, p.107-108. 1963.
- VITTI, A. J; BERGAMIN FILHO, A; AMORIM, L.; FEGIES, N. C. Epidemiologia comparativa entre a ferrugem comum e a helmintosporiose do milho: I Efeito de variáveis climáticas sobre os parâmetros monocíclicos. **Summa Phytopathológica**. Jaguariúna, v.21, n.2, p.127-130. 1995.
- WINDES, J. M.; PEDERSEN, W. L. An Isolate of *Exserohilum turcicum* Virulent on Maize With Resistance Gene HtN. **Plant Disease**, Beltsville, v.75, n.4, p.430. 1991.

**AGRESSIVIDADE DE *Exserohilum turcicum* RAÇA 0 COLETADOS EM REGIÕES
PRODUTORAS DE MILHO NO BRASIL, SAFRA 93/94.**

LEONARDO GIANASI¹; HILÁRIO A. DE CASTRO¹ E HERBERTE P. DA SILVA².

1-UFLA, caixa posta 37, 37200-000, Lavras, MG, Brasil

2-Sementes Agrocere S.A.

RESUMO

Objetivando identificar variações em agressividades entre isolados de *Exserohilum turcicum* raça 0, procedeu-se sua inoculação em linhagem de milho M 64, susceptível ao patógeno. Para comparação de agressividade, avaliou-se o número de lesões formadas por folha, área média das lesões, percentagem de área foliar necrosada e germinação *in vitro* de conídios. Os resultados obtidos permitiram caracterizar três níveis de agressividade.

Palavras chaves: Fitness. *Exserohilum turcicum*, Milho

**FITNESS OF RACE 0 OF *Exserohilum turcicum* OBTAINED FROM THE CORN
PRODUCING REGIONS OF BRAZIL, 93/94 CROP.**

LEONARDO GIANASI¹; HILÁRIO A. DE CASTRO¹ E HERBERTE P. DA SILVA².

1-UFLA, caixa posta 37, 37200-000, Lavras, MG, Brasil

2-Sementes Agrocere S.A.

ABSTRACT

To identify the fitness of isolates of race 0 of *Exserohilum turcicum*, the corn inbred M64, that is susceptible to the pathogen, was inoculated. The number of formed lesions per leaf, mean area of lesions, percentage of necrosed leaf area and conidial *in vitro* germination were appraised to compare the fitness. From the obtained results, three levels of fitness were distinguished.

Key words: Fitness, *Exserohilum turcicum*, corn.

1. INTRODUÇÃO

Helminthosporiose, Northern Leaf Blight ou Queima das Folhas do Milho, tem como agente causal *Exserohilum turcicum* (Pass.) Leonard e Suggs, que é responsável por uma das principais doenças foliares do milho atualmente (Pereira, 1995).

A doença, segundo Balmer (1980), inicia-se nas folhas inferiores, progride para a parte superior da planta, caracterizando-se pela formação de lesões necróticas de formato elíptico alongado, atingido de 2,5 a 15 centímetros de comprimento.

Embora seja de ocorrência esporádica (Esteves, 1989), a doença pode causar severas perdas a cultura, principalmente quando o início da infecção dá-se antes da floração (Ullstrup, 1963). Nestas condições, a doença provoca grande redução de área foliar da planta durante o período de enchimento dos grãos, resultando em reduções de produtividade que pode superar 50 % (Carson e Van Dyke, 1994).

No Brasil, apesar da helminthosporiose estar disseminada em todas regiões de cultivo do milho, epidemias ocorrem com maior frequência nas regiões Sul e chapadas da região Centro Oeste (Pereira, 1995), onde severos prejuízos tem sido causados aos produtores locais.

A ocorrência de epidemias em nosso País torna-se mais expressiva nos cultivos de safrinha, ocasião em que predominam temperaturas moderadas, na faixa de 20 a 25 °C, e alta umidade relativa, de 90 a 100 %, que segundo Levy (1991), são essenciais ao desenvolvimento da doença.

Tem-se registrado que, em alguns casos, a incidência da queima das folhas do milho é baixa mesmo que o ambiente apresente-se como ótimo para a doença. Por outro lado, há casos de

severas epidemias ocorrendo em condições ambientais fora do ideal ou subótimas. Segundo Levy (1991), a severidade da doença é altamente influenciada pela agressividade do patógeno, ou seja, a influência das condições ambientais sobre a severidade da doença diminui, ou torna-se pouco expressiva quando se tem campos infestados com isolados altamente agressivos.

O objetivo deste trabalho é verificar no Brasil, a existência de diferenças em agressividade entre isolados de *Exserohilum turcicum* raça 0.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Coletou-se, durante a safra 93/94, em algumas regiões produtoras de milho do Brasil, folhas com sintomas típicos de *Exserohilum turcicum*. Este material foi submetido a herborização, através de sua prensagem e seca, sendo a seguir encaminhado ao laboratório onde se procedeu o isolamento do patógeno.

Para isolar o patógeno, retirou-se das lesões, amostras do tecido foliar, que foram submetidas a uma desinfestação superficial, através de sua imersão em álcool 50 % por um minuto, Hipoclorito de Sódio 1 % por um minuto e triplice lavagem em água destilada esterilizada, sendo em seguida plaqueados em BDA, de onde após o desenvolvimento micelial, selecionou-se culturas puras, as quais foram mantidas em tubo de ensaio.

Os isolados foram caracterizados quanto a sua raça, através de metodologia adaptada de Abadi, Levy e Bar-Tsur, (1989) e Vitti et al., (1995), selecionando-se oito isolados de raça 0 de acordo com o sistema de nomenclatura proposto por Leonard, Levy e Smith (1989). (Tabela 01).

TABELA 01 - Procedência dos isolados de *Exserohilum turcicum* raça 0, utilizadas na avaliação de agressividade. UFLA-Lavras-MG, 1996.

ISOLADO	ESTADO DE ORIGEM	CIDADE DE ORIGEM
I - 01	MS	Dourados
I - 12	RS	Ibirubá
I - 17	SP	Santa Cruz das Palmeiras
I - 21	PR	Castro
I - 24	PR	Guarapuava
I - 33	PR	Pato Branco
I - 35	PR	Sertanópolis
I - 38	PR	Manoel Ribas

Para a avaliação da agressividade dos isolados de *Exserohilum turcicum*, procedeu-se sua inoculação na linhagem M64, tida como altamente susceptível ao patógeno.

A instalação do experimento foi em casa de vegetação da Universidade Federal de Lavras-UFLA, em Lavras-MG, situada a 21° 14' 06" de latitude Sul e 45° 00' 10" de longitude Oeste. O delineamento utilizado no experimento foi de blocos inteiramente casualizados com 6 repetições por tratamento, e parcelas de uma planta.

Em março de 95 plantou-se a linhagem em bandejas de isopor de 72 células, com 15 cm de profundidade. O plantio deu-se em colunas alternadas, iniciando o plantio na segunda coluna, e em seguida pulando-se duas antes do plantio da seguinte. O substrato utilizado para o plantio foi constituído da mistura 1:1 de casca de arroz carbonizada e Plantmax.

Antes da instalação do experimento procedeu-se o revigoramento da patogenicidade dos isolados através da inoculação na linhagem de milho susceptível, F 64.

A produção de inóculo originou-se da multiplicação dos isolados em meio de Lactose Caseína Hidrolizada (Tuite, 1969), de modo semelhante ao utilizado por Vitti et al. (1995). Às culturas com 20 dias idade, adicionou-se 5 ml da solução de 2 gotas de Tween 80 em 100 ml de água destilada esterilizada, raspando-se delicadamente as culturas com auxílio de um bisturi. Após o desalojamento dos conídios procedeu-se a filtração da suspensão em gaze, padronizando-se o inóculo em 3000 esporos por ml.

A inoculação das plântulas deu-se aos 20 dias após o semeio, correspondente ao estágio de crescimento I segundo Hanway (1963), atomizando-se sobre as plântulas a suspensão de esporos, com auxílio de um pulverizador manual de 1 litro, até o ponto de início de escorrimento.

Após a inoculação submeteu-se as plântulas a um período de 16 horas de câmara úmida escura, conforme metodologia adaptada de Thakur, Leonard e Jones (1989), sendo em seguida transferidas para casa de vegetação onde permaneceram sobre sombrite 50 % por 14 dias, ocasião em que se procedeu a avaliação.

Na quarta folha formada da base para o ápice da planta, procedeu-se a contagem do número de lesões formadas, sendo selecionadas as três maiores lesões, nas quais, determinou-se a área necrosada. Determinou-se ainda a percentagem de área necrosadas por folha.

Para determinação da área das lesões utilizou-se a fórmula $a \times b \times \pi/4$, onde a e b representam, respectivamente, o comprimento e largura das lesões. A área foliar foi obtida tomando-se o comprimento l , e a maior largura do limbo foliar w , e, utilizando-se da fórmula $l \times w \times 0,75$ (Kochman e Brown; Francis, Rutger e Palmer citados por Vitti et al., 1995).

Também determinou-se a nível de laboratório, a germinação *in vitro* dos conídios de *Exserohilum turcicum* raça 0. Para tanto utilizou-se de metodologia adaptada de Levy (1991), padronizando-se as suspensões de esporos em 10.000 conídios/ml. Destas suspensões retirou-se gotas de 20 μ l que foram colocadas em lâminas de vidro escavadas, sendo em seguida acondicionadas em gerbox forrados no fundo com espuma umidecida. As lâminas foram mantidas nesta câmara úmida escura por 20 horas. Após este período, procedeu-se a

determinação da percentagem de esporos germinados em quatro campos da gota, de cada uma das quatro repetições.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O número de lesões formadas por folha, com base na avaliação da quarta folha da linhagem M64, não diferiu estatisticamente para os oito isolados inoculados (Tabela 02).

TABELA 02 - Agressividade de 8 isolados de *Exserohilum turcicum* raça 0 avaliada pelo número de lesões formadas na quarta folha da linhagem M64 de milho. UFLA-Lavras-MG, 1996.

ISOLADO	Número de Lesões
I - 01	3,241 a
I - 12	3,458 a
I - 17	3,467 a
I - 21	3,231 a
I - 24	3,271 a
I - 33	3,128 a
I - 35	3,013 a
I - 38	3,315 a
Coefficiente de Variação	12,63 %

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Duncan 5%)
 Dados transformados segundo $\log x + 10$

Contudo, a área média das três maiores lesões formadas na quarta folha, revelou que o isolado 17 foi capaz de necrosar as maiores áreas, proporcionado em média, uma lesão 15 %

maior do que a proporcionada pelo isolado que formou as menores área necrosadas. Este fato também foi evidenciado na avaliação da percentagem de área necrosada por folha, onde o isolado 17 novamente demonstrou-se capaz de promover uma percentagem de necrose foliar 12 % superior que o isolado de menor eficiência (Tabela 03).

TABELA 03 - Agressividade 8 isolados de *Exserohilum turcicum* raça 0 avaliada pela área média das lesões e percentagem de área foliar necrosada, na quarta folha da linhagem M64 de milho. UFLA-Lavras-MG, 1996.

ISOLADO	Área média das lesões (mm ²)	% de área foliar necrosada
I - 01	3,27 a b	2,77 a b
I - 12	2,97 a b	2,74 a b
I - 17	3,31 a	2,99 a
I - 21	2,93 a b	2,62 b
I - 24	3,29 a b	2,75 a b
I - 33	3,12 a b	2,69 b
I - 35	3,21 a b	2,66 b
I - 38	2,89 b	2,66 b
C. de Variação	21,67 %	44,94%

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Duncan 5%)
 Dados transformados segundo $\log x + 10$

Na avaliação realizada em laboratório, pode-se observar que apenas o isolado 38 mostrou-se com menor capacidade de germinação de seus conídios (Tabela 04). Estes resultados diferem dos encontrados por Levy (1991), onde os isolados testados, apresentaram germinação semelhante. Ao constatar estes resultados o autor sugere, que diferenças na eficiência de infecção são devidas a diferenças expressadas durante a formação do apressório, penetração ou nos primeiros estádios de colonização. A agressividade do patógeno, expressa pela capacidade de germinar, encontradas neste trabalho permitem sugerir que a eficiência de infecção pode ser influenciada também pela capacidade de germinação dos conídios do isolado.

TABELA 04 - Germinação *in vitro* de esporos de 8 isolados de *Exserohilum turcicum* raça 0. UFLA-Lavras-MG, 1996.

Isolado	% de Esporos Germinados
I - 01	4,676 a
I - 12	4,658 a
I - 17	4,654 a
I - 21	4,639 a
I - 24	4,637 a
I - 33	4,635 a
I - 35	4,608 a
I - 38	4,411 b
Coefficiente de Variação	1,89 %

Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si (Duncan 5%)
 Dados transformados segundo $\log x + 10$

Apartir dos resultados obtidos neste trabalho pode-se afirmar que há variações na agressividade de isolados de *Exserohilum turcicum* raça 0, sendo ao que parece, o isolado 17, procedente de Santa Cruz das Palmeiras o mais agressivo, pois demonstrou ser capaz de causar lesões de área superiores a dos demais isolados e promover uma maior percentagem de área foliar necrosada. Notou-se também, que o isolado 38, proveniente de Manoel Ribas, pode ser considerado como menos agressivo, pois apresentou uma menor capacidade de germinação de seus esporos, o que permitiu diferenciá-lo de outros isolados que apresentaram número, tamanho de lesões e percentagem de área foliar necrosada semelhantes.

Em Israel, a partir de isolados procedentes de 15 regiões diferentes, foi possível colocar os isolados em oito grupos de agressividade (Levy, 1991). Estes resultados estão de acordo com os

obtidos neste trabalho, pois conseguiu-se caracterizar em menor grau variação na agressividade dos isolados aqui testados, o que também já foi diagnosticado no Brasil por Almeida e Heidrich Sobrinho (1978).

Ao se comprovar diferença na agressividade do patógeno em nossas condições torna-se mais fácil a explicação da ocorrência de epidemias mais ou menos severas a nível de campo, sendo este também um fator a se considerar para quantificação de perdas e ou avaliação de impacto de doença, além da época de início de infecção, como sugere Ullstrup (1963).

4. LITERATURA CITADA

- ABADI, R.; LEVY, Y.; BAR-TSUR, A. Physiological races of *Exserohilum turcicum* in Israel. *Phytoparasitica*, v. 17, p. 23-30, 1989.
- ALMEIDA, A. M. P.; HEIDRICH SOBRINHO, E. Raças Fisiológicas de *Helminthosporium turcicum*, Passerine, no Rio Grande do Sul. *Agronomia Subriograndense*, Porto Alegre, v. 14, n.2, p.285-290, 1978.
- BALMER, E. Doenças do Milho. In: GALLI, F (Coord.) *Manual de Fitopatologia*. 2.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980. v.2, p.371-391.
- CARSON, M. L.; VAN DYKE, C. G. Effect of Light and Temperature on Expression of Partial Resistance of Maize to *Exserohilu turcicum*. *Plant Disease*, Beltsville, v.78, n.5, p.519-522. 1994
- ESTEVES, M. C. F. *Reações a Exserohilum turcicum (Pass.) Leonard & Suggs em milho (Zea mays L.) e variabilidade do patógeno*. Piracicaba: ESALQ, 1989. 55p. (Tese Mestrado em Genética).
- HANUWAY, J. J. growth Satges of Corn (*Zea mays*, L.). *Agronomy Journal*, Madison, v. 55, n.5, p.487-492. 1963.
- LEONARD, K. J; LEVY, Y.; SMITH, D. R. Proposed Nomeclature for pathogenic Races of *Exserohilum turcicum* On Corn. *Plant Disease*, Beltsville, v.73, p.776-777. 1989.

- LEVY, Y. Variation in Fitness Among Field Isolates of *Exserohilum turcicum* in Israel. **Plant Disease**, Beltsville, v. 75, p. 163-166. 1991.
- PEREIRA, O. A. P. Análise da Situação Atual de Doenças de Milho no Brasil e Disponibilidade de Germoplasma Resistente. **Summa Phytopathológica**, Jaguariúna, v.21, n.1, p.67-70. 1995.
- THAKUR, R. P; LEONARD, K.J.; JONES, R. K. Characterization of a New Race of *Exserohilum turcicum* Virulent on Corn With Resistance Gene HtN. **Plant Disease**, Beltsville, v. 71, p.151-155. 1989.
- TUITE, J. **Plant Pathological Methods: Fungi and Bacteria**. Mineapolis, Burgess Publishing. 1969. 239p.
- ULLSTRUP, A. J. Sources of resistance to northern corn leaf blight. **Plant Disease reporter**, Beltsville, v.47, p.107-108. 1963.
- VITTI, A. J; BERGAMIN FILHO, A; AMORIM, L.; FEGIES, N. C. Epidemiologia comparativa entre a ferrugem comum e a helminthosporiose do milho: I Efeito de variáveis climáticas sobre os parâmetros monocíclicos. **Summa Phytopathológica**. Jaguariúna, v.21, n.2, p.127-130. 1995.

5. DISCUSSÃO GERAL

Baseando-se na metodologia utilizada para identificação de raças, adaptada de Esteves (1989), pode-se confirmar os resultados obtidos por Almeida e Heidrich Sobrinho (1978), Heidrich Sobrinho e Hermes (1981), e Esteves, (1989), os quais através de suas conclusões já sugeriam a ocorrência de variabilidade genética entre isolados de *Exserohilum turcicum*, verificando a presença de diferentes agressividades e a existência de pelo menos duas raças fisiológicas no País. Em nosso trabalho pode-se notar a ocorrência de uma maior variabilidade do que a sugerida pelos autores pois foram identificados 8 isolados como raça 0, 5 isolados raça N, 4 isolados raça 2, 2 isolados raça 2N e 1 isolado das raças 3, 1N, 3N, 12N, 23N e 123N. Estes resultados diferem das citações internacionais pois ao que parece tem-se registrado apenas a ocorrência das raças 0, 1, 23, 23N e 2N (Leonard, Levy e Smith, 1989 e Winds e Pedersen, 1991).

Quanto ao registro das temperaturas no pós inoculação em casa de vegetação, verificou-se em média as temperaturas máximas e mínimas de 28,9 e 19,5 °C respectivamente. Estas temperaturas situam-se seguramente num patamar superior ao registrado como ideal por Leonard, Levy e Smith (1989), os quais citam como ideal para caracterização de raças temperaturas ao redor de 20 °C. Apesar de se registrar temperaturas superiores, notou-se que houve eficiência no processo pois se conseguiu patogenicidade nas linhagens possuidoras de todos os genes para resistência ao patógeno, ao mesmo tempo em que houve a manifestação de resistência condicionada por todos os genes. A eficiência de manifestação de virulência em regimes térmicos

elevados foi demonstrado por Carson e Van Dyke (1994), ao estudarem temperaturas de 26/30°C, temperaturas do dia e da noite, respectivamente. Os autores concluem como essencial para boa eficiência no processo uma aclimação das plantas ao regime térmico, colocando-as nestas condições pelo menos uma semana antes da inoculação, fato este que se verificou em nossas condições de trabalho ao manter-se as plantas em casa de vegetação desde o plantio, dando portanto um bom período de aclimação antes da inoculação.

Os oito isolados identificados como raça 0 foram submetidos a avaliação de agressividade, que demonstrou ocorrer em nossas condições pelo menos três patamares de agressividade, pois demonstrou-se que o isolado 17 proveniente de Santa Cruz das Palmeiras foi capaz de promover um tamanho de lesões e percentagem de área foliar necrosada estatisticamente superior a promovida pelos demais isolados testados. Através do teste de germinação *in vitro* pode-se caracterizar o isolado 38, procedente de Manoel Ribas como o menos agressivo, demonstrando uma capacidade germinativa inferior a verificada pelos demais isolados. Tem-se desta maneira a caracterização dos níveis superiores e inferiores de agressividade entre os isolados testados, situando-se num patamar intermediário os demais isolados testados. Levy, (1991) em Israel, também caracterizou oito níveis de agressividade a partir de isolados provenientes de 15 regiões.

Apesar da uma ampla variabilidade genética verificada através de raças fisiológicas e mesmo de agressividade dentro da raça 0 de *Exserohilum turcicum*, há predominância nas regiões amostradas de isolados raça 0. Este domínio facilita a manipulação dos genes que condicionam resistência ao patógeno, pois todos os Ht são capazes de resistir a raça 0 do patógeno. Observou-se ainda que a resistência conferida pelos Ht genes, em nossas condições, foi capaz de resistir a todos os níveis de agressividade aqui verificados.

Finalmente notou-se uma menor frequência de isolados capazes de vencer a resistência condicionada pelo gene Ht1, o que nos leva a sugerir a utilização deste gene nos programas de melhoramento, pois segundo Leath e Pedersen, (1986), mesmo em locais onde esta resistência seja vencida, epidemias provocadas pela raça 1 seriam menos danosas nas plantas portadoras de gene Ht1, do que naquelas plantas sem qualquer gene de resistência.

Futuramente, acredita-se que as empresas produtoras de sementes e ou órgãos governamentais terão como responsabilidade a realização de monitoramentos frequentes, para determinação do predomínio das raças no País ou mais detalhadamente em micro regiões, para assim se poder direcionar ou alterar seus programas de melhoramento visando resistência a doença. Neste direcionamento as empresas deverão ser capazes, de anualmente, introduzir materiais específicos, resistentes a uma ou mais raças de *Exserohilum turcicum*, em função da raça mais frequente no País ou em micro regiões.

LITERATURA CITADA.

- ALMEIDA, A. M. P.; HEIDRICH SOBRINHO, E. Raças Fisiológicas de *Helminthosporium turcicum*, Passerine, no Rio Grande do Sul. *Agronomia Subriograndense*, Porto Alegre, v. 14, n.2, p.285-290, 1978.
- CARSON, M. L.; VAN DYKE, C. G. Effect of Light and Temperature on Expression of Partial Resistance of Maize to *Exserohilum turcicum*. *Plant Disease*, Beltsville, v.78, n.5, p.519-522. 1994.
- ESTEVES, M. C. F. **Reações a *Exserohilum turcicum* (Pass.) Leonard & Suggs em milho (*Zea mays* L.) e variabilidade do patógeno.** Piracicaba: ESALQ, 1989. 55p. (Tese Mestrado em Genética).
- HEIDRICH SOBRINHO, E.; HERMES, M. T. L. Studies of Genetic Resistance to and Virulence of *Trichometasphaeria turcica* Lutt in corn. *Revista Brasileira de Genética*, Ribeirão Preto, v. 4, n. 1, p.17-28, 1981.
- LEATH, S.; PEDERSEM, L. Differences in Resistance Between Hybrids With or Without the Ht1 Gene When Infected With *Exserohilum turcicum* Race 2. *Phytopathology*, St. Paul, v. 76, n. 3, p.257-260. 1986.
- LEONARD, K. J; LEVY, Y.; SMITH, D. R. Proposed Nomenclature for pathogenic Races of *Exserohilum turcicum* On Corn. *Plant Disease*, Beltsville, v.73, p.776-777. 1989.
- LEVY, Y. Variation in Fitness Among Field Isolates of *Exserohilum turcicum* in Israel. *Plant Disease*. Beltsville, v. 75, p. 163-166. 1991.

WINDES, J. M.; PEDERSEN, W. L. An Isolate of *Exserohilum turcicum* Virulent on Maize With Resistance Gene HtN. **Plant Disease**, Beltsville, v.75, n.4, p.430. 1991.