

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**RESPOSTA DE CULTIVARES DE MILHO A *Colletotrichum*
*graminicola***

Vagner Alves da Silva
Engenheiro Agrônomo

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
2006

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**RESPOSTA DE CULTIVARES DE MILHO A *Colletotrichum
graminicola***

Vagner Alves da Silva

Orientadores: Profa. Dra. Rita de Cássia Panizzi

Dr. Carlos Roberto Casela

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Agronomia (Produção Vegetal).

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Julho de 2006

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

VAGNER ALVES DA SILVA - nascido em Rio Verde – Goiás aos 9 de janeiro de 1967. É filho de João Alves de Oliveira e Sebastiana Paula de Oliveira. Engenheiro Agrônomo pela Escola Superior de Ciências Agrárias de Rio Verde 1991. Funcionário de carreira da AGENCIARURAL – Agência Goiana de Desenvolvimento Rural e Fundiário ingressou em 1990 através de concurso público na EMGOPA (Empresa Goiana de Pesquisa Agropecuária), como assistente de pesquisa. Exerceu atividade administrativa - RT do Laboratório de Solos da Estação Experimental ' ' OlavøServulo de Lima` ` . Em 2004 iniciou o mestrado na Universidade Estadual Paulista/ Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, finalizando o curso em julho de 2006. Atualmente é Supervisor do Campo Experimental da AGENCIARURAL em Rio Verde, Goiás.

Nada há melhor para o homem do que comer, beber e fazer com que sua alma goze o bem do seu trabalho. No entanto vi também que isto vem da mão de Deus.

Eclesiastes 2: 24

A verdadeira medida de um homem não se vê na forma como se comporta em momentos de conforto e conveniência, mas em como se mantém em tempos de controvérsia e desafio.

Martin Luther King Jr.

Não são as más ervas que afogam a boa semente, mas sim a negligência do camponês.

Confúcio

DEDICO

A meus pais João Alves de Oliveira e Sebastiana Paula de Oliveira,
obrigado pelo amor e apoio durante todos estes anos;

A minha esposa Ivanilde Alves e meu filho Flávio Henrique,
obrigado pelo amor, companhia e por continuarem caminhando juntos mesmo nos
momentos difíceis da jornada.

OFEREÇO

Ao Srº Lucas José do Carmo, in`memorian´´, grande incentivador da minha vida
acadêmica.

Muito obrigado.

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida e uma família maravilhosa, que esteve ao meu lado nos bons e maus momentos desta caminhada;

A meus pais, que não mediram esforços para me dar uma vida melhor;

A minha esposa Ivanilde Alves e meu filho Flávio Henrique, por terem me apoiado e acima de tudo terem me dado conforto nos momentos de saudade;

À AGENCIARURAL por ter me concedido a oportunidade da realização deste curso;

Ao Departamento de Fitossanidade da Universidade Estadual Paulista, pela oportunidade de realização deste curso;

Ao Centro Nacional de Pesquisa Milho e Sorgo CNPMS/EMBRAPA, pela possibilidade de realização, em suas dependências, de etapas desta dissertação;

À Professora Dra. Rita de Cássia Panizzi, pela amizade e dedicação a mim dispensadas durante realização do curso sob sua orientação;

Ao Dr. Carlos Roberto Casela, pela amizade, incentivo, apoio e principalmente pela oportunidade da realização desta dissertação sob sua orientação;

Aos Professores do Departamento de Fitossanidade: Dr. Antonio de Góes, Dr. Modesto Barreto e Dra. Margarete Camargo, por estarem sempre disponíveis a um questionamento;

Aos Funcionários do Laboratório de Fitopatologia da FCAV/UNESP, Lúcia Rita Ramos, Rosangela Teodoro dos Santos Souza, Luis Carlos Rufino e Vanderlei Penteado Brasil, pela ajuda na realização de etapas deste trabalho;

Aos meus amigos Dagma Dionísia, Josiane Sido, Clóvis Ribeiro Geraldo e José Moreira, pela ajuda nas etapas deste trabalho realizadas no CNPMS;

À bibliotecária Maria Tereza pela simpatia e auxílio durante a confecção desta dissertação;

Em especial à Dra. Ana Lúcia Pereira, Supervisora do Campo Experimental de Rio Verde e ao Dr. Crésio Gomes, Gerente de Pesquisa da AGENCIARURAL, pela sustentação institucional durante a realização deste curso.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	vii
SUMMARY.....	ix
CAPITULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS	1
1.1 Introdução	1
1.2 Objetivo	3
1.3 Revisão de literatura.....	4
1.3.1 Antracnose do milho.....	4
1.3.2 Uso de mistura de cultivares e multilinhas para controle de doença de plantas.....	7
CAPITULO 2 – REAÇÃO DE GENÓTIPOS DE MILHO, A ISOLADOS DE <i>Colletotrichum graminicola</i>, EM CASA DE VEGETAÇÃO	9
2.1 RESUMO.....	9
2.2 SUMMARY.....	10
2.3 Introdução.....	11
2.4 Material e Métodos.....	12
2.5 Resultados e Discussão.....	15
CAPITULO 3 – REAÇÃO DE HÍBRIDOS DE MILHO A ISOLADOS DE <i>Colletotrichum graminicola</i>, EM CONDIÇÕES DE CAMPO.....	17
3.1 RESUMO.....	17
3.2 SUMMARY.....	19
3.3 Introdução.....	21
3.4 Material e Métodos.....	22
3.5 Resultados e Discussão.....	25
4. Conclusões Finais.....	33
5. Referências.....	34
6. APÊNDICE.....	44
6.1 APÊNDICE A - Resposta de 15 genótipos de milho a nove isolados de <i>Colletotrichum graminicola</i> , em casa de vegetação. Escala de notas proposta por FERREIRA & CASELA, 1986 (notas de 1,0 a 5,0).....	45

LISTA DE TABELAS

	Página
TABELA 1. Características dos genótipos de milho avaliados nos experimentos, em casa de vegetação.....	12
TABELA 2. Isolados de <i>Colletotrichum graminicola</i> pertencentes à micoteca da Embrapa Milho e Sorgo - CNPMS testados no experimento, de casa de vegetação.....	13
TABELA 3. Resposta de 15 genótipos de milho a nove isolados de <i>Colletotrichum graminicola</i> , em casa de vegetação, Sete Lagoas – MG, 2005.	16
TABELA 4. Isolados de <i>Colletotrichum graminicola</i> pertencentes à micoteca da Embrapa Milho e Sorgo - CNPMS testados nos experimentos, de campo	24
TABELA 5. Reação de híbridos de milho a <i>Colletotrichum graminicola</i> , avaliada pela área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), na região de Jaboticabal – São Paulo	25
TABELA 6. Reação de híbridos de milho a <i>Colletotrichum graminicola</i> , avaliada pela área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), na região de Sete Lagoas – Minas Gerais	26
TABELA 7. Avaliação conjunta da reação de híbridos de milho a <i>Colletotrichum graminicola</i> , avaliados em Jaboticabal, SP e Sete Lagoas, MG.....	28
TABELA 8. Quadro de análise de variância conjunta para avaliação da reação de híbridos de milho a <i>Colletotrichum graminicola</i> , em Jaboticabal, São Paulo - SP e Sete Lagoas, MG.....	29

LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1. Dados climatológicos para o município de Jaboticabal – SP nos meses de A) janeiro, B) fevereiro e C) março de 2005....	27
FIGURA 2. Dados climatológicos para o município de Sete Lagoas – MG nos meses de A) janeiro, B) fevereiro e C) março de 2005.....	30

RESPOSTA DE CULTIVARES DE MILHO A *Colletotrichum graminicola*

RESUMO

A antracnose do milho é conhecida desde 1852. Atualmente tem se constituído em uma das mais importantes doenças desta cultura, por estar disseminada em todas as regiões produtoras do Brasil e devido à capacidade de causar perdas à produção. Por ser uma doença ainda pouco estudada nas condições brasileiras, há uma carência de informações sobre o comportamento de cultivares de milho, sendo este um aspecto importante para o controle da doença. O presente trabalho teve como objetivo avaliar genótipos de milho quanto à resistência a *Colletotrichum graminicola*, em condições de campo e casa de vegetação, por inoculações artificiais com isolados do patógeno obtidos de áreas de ocorrência da doença. Os experimentos foram instalados em dois locais: Fazenda experimental da FCAV/UNESP Câmpus Jaboticabal-SP em dezembro de 2004 e Embrapa Milho e Sorgo – CNPMS Sete Lagoas, MG, em janeiro de 2005 e em maio de 2005, em casa de vegetação do CNPMS. O delineamento experimental usado para os ensaios de campo, foi bloco ao acaso com três repetições. As inoculações foram realizadas, pela pulverização do inóculo de *C. graminicola*, obtidos pela mistura de nove isolados, na concentração de 10^5 esporos $\times$ mL⁻¹, em toda parte aérea da planta. As avaliações de severidade da antracnose foram semanais, em todas as parcelas, a partir do 7º dia da inoculação, sendo calculado o valor da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD). Para os experimentos em casa de vegetação, com base nas reações a nove isolados de *C. graminicola*, verificou-se que o híbrido triplo BRS 3003 foi resistente a todos isolados, e as linhagens L1, L2, L4 e L6 foram suscetíveis a todos. De acordo com os dados obtidos no experimento, existe evidência da existência de raças de *Colletotrichum graminicola* entre os isolados. No ensaio de Jaboticabal, os menores valores de AACPD foram observados nos genótipos BRS 3003 (híbrido triplo), seguido do BRS 2020 (híbrido duplo). Em Sete Lagoas, os menores valores de AACPD foram para os híbridos BRS 3003 e CMS 101142 (híbrido simples). Em geral, o híbrido BRS 3003 apresentou os menores valores da AACPD, sugerindo

que a maior variabilidade genética (intercruzamento de três genótipos) desse material conferiu maior proteção contra o patógeno.

Palavras-chave: variabilidade fisiológica, AACPD, inoculações, resistência.

THE REACTION OF CORN CULTIVARS TO *Colletotrichum graminicola*

SUMMARY

Corn anthracnose has been known since 1852. Recently it has become one of the most important diseases of this crop because of its dissemination throughout all the productive regions of Brazil and because of its capacity to cause loss of production. Because it is a disease that has had little study conducted on it in Brazilian crops, there is a lack of information on its effect on certain types of corn cultivars, this being an important aspect in the control of the disease. This research had as an objective to evaluate genotype of corn to see the resistance to *Colletotrichum graminicola*, in field conditions and greenhouse conditions, through artificial inoculations with isolated pathogens obtained in locations where the disease is prevalent. The research was setup in two locations: Fazenda Experimental da FCAV/Unesp Câmpus Jaboticabal - SP in December 2004 and Embrapa Milho e Sorgo/CNPMS Sete Lagoas – MG in January 2005 and May 2005 in the greenhouse of CNPMS. The research delineation used for the research in the field were random blocs with three repetitions. The inoculations were performed by pulverizing the inoculations of *C. graminicola*, obtained by the mixture of nine isolates in the concentration of 10^5 spores/mL, on the whole area of the plant. The evaluations of the severity of anthracnose were weekly, on all the plots, starting the 7th day after inoculations, the values being calculated below the progress curve of the disease (AUDPC). For the research in the greenhouse, with basis on the reaction of the nine isolates of *C. graminicola*, the triple hybrid BRS 3003 was shown to be resistant to all isolates and the lines L1, L2, L4 e L6 were susceptible to all. According to the data obtained in the experiment, there is evidence of the existence to races of *Colletotrichum graminicola* among the isolates. In the plots of Jaboticabal, the lowest values of AUDPC were observed in the genotypes BRS 3003 (triple hybrid), followed by BRS 2020 (double hybrid). In Sete Lagoas, the lowest values of AUDPC were from the hybrids BRS 3003 and CMS 101142 (simple hybrid). In general the hybrid BRS 3003 showed the lowest

values of AUDPC, suggesting that the greater genetic variability (intercrossing of three genotypes) of this material was better protection against the pathogen.

Key words: Physiological variability, AUCPD, inoculations, resistance.

1. CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1.1 Introdução

A produção brasileira de grãos (cereais, leguminosas e oleaginosas), para a safra 2005/2006 foi de pouco mais de 124 milhões de toneladas, 10,5 milhões a mais que a safra 2004/2005 que alcançou 113 milhões de toneladas. Neste universo produtivo o milho contribuiu com 41,7 milhões de toneladas (32,87 milhões de toneladas na safra e 8,8 milhões de toneladas na safrinha), correspondendo a um incremento de 19,1% em relação à safra 2004/2005, sendo que destes valores 4,4% deve ser atribuído à ocupação por parte do milho (1ª safra) na região centro-oeste de áreas destinadas à soja (CONAB, 2006).

O milho tem se constituído em uma das principais culturas brasileira, colocando o Brasil como terceiro produtor mundial, com uma produtividade média da ordem de 3346 kg ha⁻¹ na safra e de 3135 kg ha⁻¹ na safrinha, sendo inferior à média dos principais estados brasileiros produtores que é de 4979 kg ha⁻¹ (CONAB, 2006).

A expansão da cultura do milho nos últimos anos foi devida vários fatores, como a obtenção de novos híbridos mais produtivos; ao deslocamento da cultura para a região centro-oeste. A ampliação da época de semeadura, determinada pelo plantio do milho em áreas irrigadas; a sucessão da cultura de verão, principalmente à cultura da soja, denominada de plantio de safrinha; pela semeadura do milho em sucessão em uma mesma área; e ao emprego de novas tecnologias.

Com o crescimento da área de plantio tem se verificado o aumento da severidade e da incidência de doenças na cultura do milho e neste contexto a introdução de novos cultivares comerciais com diferentes níveis de resistência, e a adoção de práticas como plantio direto, podem favorecer a ocorrência de doenças, devido ao acúmulo de inóculo de patógenos.

O fungo *Colletotrichum graminicola* (Ces.) G.W.Wils., agente causal da antracnose foliar e do colmo em milho (*Zea mays* L.), tem se constituído como um dos principais problemas em áreas com sistema de plantio direto e que adotam a 2ª época de plantio 'safrinha'.

Uma alternativa para controle de patógenos com alta variabilidade é a utilização da diversificação da população hospedeira (GUIMARÃES et al. 1998a; GUIMARÃES et al. 1998b).

Na atualidade existe uma grande preocupação em avaliar a biodiversidade, em razão da perda acentuada da diversidade genética. Isso devido à ação do homem, que substituiu variedades locais por variedades modernas, híbridos e, mais recentemente, clones, de forma que grandes extensões de área são ocupadas por uma ou poucas variedades ou materiais de base genética estreita (CRUZ, 2005), propiciou o aumento da incidência de doenças.

Devido a grandes extensões de áreas plantadas, a utilização da sucessão ao invés da rotação e o uso de cultivares com base genética estreita, tem aumentado a ocorrência do *C. graminicola* nas regiões produtoras de milho (BARBOSA, 2001; CRUZ et al. 1996). Porém, ao contrário do que se verifica para a antracnose do sorgo, causado pelo *C. sublineolum*, a literatura é escassa em estudos relativos a este patossistema.

1.2 Objetivo

O presente trabalho teve por objetivo avaliar a diversidade genética existente em genótipos de milho (linhagens, híbridos simples, duplos e triplos) com relação a *Colletotrichum graminicola*.

1.3 Revisão de Literatura

1.3.1 Antracnose do milho

O primeiro relato da antracnose do milho no Brasil foi feito por SILVEIRA et al. (1965) ao constatar a presença da doença no município de Campinas, Estado de São Paulo, em área de produção de semente híbridas no ano de 1965, com uma redução na produção em torno de 30%. Nos Estados Unidos da América, epidemias severas chegaram a inviabilizar a cultura do milho doce no Estado de Indiana, durante dois anos após sua constatação (REZENDE, 2004; WARREN et al., 1973; BERGSTRON & NICHOLSON, 1999). Os efeitos do patógeno contribuíram para uma redução de 0% a 40 % na produção americana, sendo esta associada a três fatores: genótipos suscetíveis, ambiente favorável e estágio da planta em que a doença ocorreu com maior severidade.

No Brasil, o fungo *C. graminicola* tem causado em milho manchas foliares e podridão de colmo em todas as regiões produtoras (CRUZ et al., 1996; FERNANDES & BALMER, 1990; FERNANDES & OLIVEIRA, 1997; PONTES, 1987).

A antracnose do milho é causada pelo fungo *Glomerella graminicola* Politis, anamorfo *Colletotrichum graminicola*, pertence à ordem Melanconiales, designada para fungos que produzem os seus conídios em estruturas reprodutivas (conidiomas) denominadas de acérvulos. Na fase sexual observa-se a formação de peritécios, que são raramente encontrados na natureza. VAILLANCOURT & HANAU (1992) obtiveram, a partir de isolados monóspóricos de *C. graminicola*, a fase sexual, caracterizada por peritécios erupentes e rostrados, ascas cilíndricas, clavadas, com um poro no ápice. Os ascósporos são hialinos, unicelulares e curvados com apêndice afilado; na fase imperfeita o fungo produz acérvulos de coloração escura com formato que pode variar de oval a cilíndrico, no interior dos quais são produzidos conidióforos não septados,

hialinos e eretos. Os conídios são hialinos, não septados e falciformes, e produzidos na parte terminal dos conidióforos (CASELA & FERREIRA, 1998).

Os conídios podem permanecer viáveis de semanas a meses, dependendo da umidade relativa do ar e desde que estejam recobertos por uma matriz mucilaginosa (NICHOLSON & MORAES 1980; BERGSTROM & NICHOLSON, 1983; BERGSTROM & NICHOLSON, 1999). A dispersão ocorre por respingos de chuva e através dos ventos. BERGSTROM & NICHOLSON (1983) relataram que a matriz mucilaginosa não está envolvida apenas na sobrevivência dos conídios do fungo, mas também na indução da patogenicidade.

A infecção primária normalmente se dá pelos conídios produzidos nos acérvulos presentes nos restos de culturas, e o fungo pode sobreviver até dez meses nessa matéria orgânica (NAYLOR & LEONARD, 1977). Em sementes infectadas naturalmente a viabilidade do fungo é estável, porém reduzida em sementes inoculadas artificialmente (PEREIRA, 1978). Em sementes, o patógeno pode sobreviver por até três anos. Desta forma a rotação de culturas por dois anos e o uso de sementes sadias se constitui métodos de controle eficientes para o patógeno (LIPPS, 1988; WARREN, 1977).

Colletotrichum graminicola é encontrado infectando folhas e colmos de plantas de milho, porém pode infectar sementes, raízes e brácteas. Plantas infectadas nas fases iniciais podem desenvolver os sintomas, contudo a fase propícia para desenvolvimento dos sintomas é a partir do florescimento, fase mais propícia para o aparecimento de sintomas (FERREIRA & CASELA, 2001).

FERREIRA & CASELA (2001) descreveram que a fase foliar pode ocorrer em vários estádios de desenvolvimento da cultura, onde as lesões se apresentam escuras com tamanho variando de 0,5 cm a 1,5 cm, tendo a forma de ovalada a elíptica, podendo apresentar as bordas das lesões de forma irregular. Em genótipos muito suscetíveis, as lesões coalescem, provocando a morte prematura das folhas. Na nervura central as lesões são elípticas e alongadas de coloração escura, onde são formados os acérvulos, provocando a queima da ponta da folha em forma de “V”, se assemelhando à deficiência de nitrogênio. No colmo (lesões encharcadas, estreitas,

elípticas na vertical ou oval), com o desenvolvimento da doença, as lesões tornam-se marrom-avermelhadas e por fim marrom-escuros a negras. As lesões podem coalescer, formando áreas necrosadas escuro-brilhantes com aspecto de murchamento. Em genótipos suscetíveis pode provocar a morte prematura e acamamento.

Com relação à epidemiologia da doença, JAMIL & NICHOLSON (1987) relataram que para ocorrer a germinação dos conídios a água tem papel fundamental, tendo em vista que a doença é favorecida por alta umidade e temperaturas moderadas.

A temperatura ideal, segundo LEONARD & THOMPSON (1976), para o desenvolvimento de *C. graminicola* é de 30 °C podendo haver variação em relação ao cultivar adotado. SKOROPAD (1967) relata que a germinação e formação de apressórios podem ocorrer em uma faixa maior de temperatura de 15 a 35 °C, mas a penetração do hospedeiro somente ocorrerá com uma temperatura em torno dos 25 a 30 °C.

Colletotrichum graminicola, segundo a literatura, apresenta variabilidade patogênica. WHEELER et al. (1974), ao trabalharem com vinte e seis isolados do patógeno, sugeriram a possibilidade da existência de raças de *C. graminicola* em milho. Posteriormente, NICHOLSON & WARREN (1981) e WHITE et al. (1987), chegaram a conclusões diferentes daquelas de WHEELER et al. 1974, pois em trabalhos sobre virulência e agressividade de *C. graminicola* em milho verificaram a existência de diferenças significativas quanto à agressividade, mas não quanto à virulência, característica fundamental para se concluir pela existência de raças fisiológicas de um patógeno.

Estudos realizados por WHITE et al. (1987) com patogenicidade, (virulência e agressividade) de quatorze isolados de *C. graminicola*, doze de milho (*Zea mays* L.) e dois de sorgo (*Sorghum bicolor*) em três linhagens de milho e duas cultivares de sorgo, com resistência diferenciada uma da outra, concluíram não ser possível diferenciar raças entre os isolados por eles avaliados.

Para controle da doença a utilização da resistência genética em cultivares comerciais é considerada a principal e mais eficiente estratégia de manejo da antracnose (CARSON & HOOKER, 1981a; CARSON & HOOKER, 1981b; SILVA et al.

1986; LIM & WHITE, 1978). Entretanto, o emprego dessa medida é dificultada devido à alta variabilidade patogênica apresentada por *C. graminicola*, a qual determina rápida adaptação do patógeno às cultivares resistentes em uso (LIMA & MENEZES, 2002; FERREIRA & CASELA, 2001; CASELA et al. 2001 CASELA et al. 2000; GUIMARÃES et al. 1999; CASELA & FERREIRA, 1996; CASELA & FREDERIKSEN, 1994; PANDE et al. 1991; CARDWELL et al. 1989; CARDWELL et al. 1988).

Com auxílio de marcadores moleculares, diversos genes condicionando resistência a vários patógenos já foram mapeados, no entanto no patossistema milho x *C. graminicola* apenas uma região cromossômica foi mapeada no cromossomo 4 como contendo genes de resistência (MACMULLEN & SIMCOX, 1995; JUNG et al. 1994).

Segundo GUIMARÃES et al. (1996), os componentes que determinam a variabilidade são: mutação, recombinação sexual, heterocariose, parassexualidade, herança citoplasmática, seleção, fluxo gênico e deriva genética.

FREDERIKSEN & ROSENOW (1971) relataram que para se obter uma cultivar com resistência a determinada doença, os seguintes parâmetros devem ser atendidos: o nível da resistência deve ser suficiente para avaliação; as técnicas usadas devem estar disponíveis para se identificar e avaliar a resistência; a resistência deve ser herdável e apresentar estabilidade em diferentes ambientes.

1.3.2 Uso de misturas de cultivares e multilinhas para controle de doenças de plantas

WOLFE (1985) relata que a ocorrência de uma epidemia está relacionada à utilização de culturas geneticamente uniformes, ao contrário da utilização de culturas geneticamente diversificadas na mesma área, onde não há uniformidade suficiente para multiplicação do patógeno. A utilização de hospedeiros mais complexos em misturas de genótipos ou multilinhas tem se constituído em uma forma de manejo de patógeno de alta variabilidade (TAPSOBA & WILSON, 1999; GUIMARÃES et al. 1998b).

O uso da resistência tem se constituído no método mais eficiente e viável para o controle de doenças de plantas, muitas vezes esta técnica torna-se inviável devido à alta variabilidade do patógeno, fazendo com que haja uma rápida adaptação deste às cultivares resistentes (GUIMARÃES et al. 1998b; MUNDT & LEONARD, 1985). Uma possível alternativa para controle de patógenos com alta variabilidade é a utilização de populações de hospedeiros mais complexos, através das multilinhas e misturas de genótipos (TAPSOBA & WILSON, 1999; GUIMARÃES et al. 1998a; NTAHIMPERA et al. 1996).

A utilização de multilinhas e misturas de genótipos no manejo de doenças têm sido empregadas há bastante tempo e em várias culturas (NTAHIMPERA et al. 1996; MUNDT & LEONARD, 1986; WOLFE, 1985; JEGER et al. 1981a; JEGER et al. 1981b; LEONARD, 1969; BROWNING & FREY, 1969; VANDERPLANK, 1963). Consiste na utilização de mistura de linhagens agronomicamente semelhantes (isogênicas) que apresentam como diferença, diferentes genes de resistência vertical a um determinado patógeno. Por sua vez na mistura de genótipos são envolvidas sementes de diferentes cultivares, híbridos ou linhagens de uma espécie em diferentes proporções, com diferentes genes de resistência a um determinado patógeno (TAPSOBA & WILSON, 1999; GUIMARÃES, 1996). Na mistura de genótipos as plantas resistentes reduzem o inóculo inicial e impedem a dispersão do patógeno para os genótipos suscetíveis. Os genótipos resistentes da mistura atuam como barreira física dificultando desta forma a dispersão do patógeno e limitando o desenvolvimento de epidemias dentro do patossistema. Esta limitação pode ser explicada pela modificação no microclima, redução de hospedeiros suscetíveis, redução na produção e dispersão de esporos do patógeno e inibição por competição. É o principal fator para redução da doença em misturas a baixa densidade do hospedeiro suscetível, com uma redução de esporos a cada geração do patógeno (LANNOU et al. 1994; WOLFE, 1985; LESLEY & WHITTINGTON, 1983).

2. CAPITULO 2 – REAÇÃO DE GENÓTIPOS DE MILHO A ISOLADOS DE *Colletotrichum graminicola*, EM CASA DE VEGETAÇÃO

2.1 RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a reação de genótipos de milho a isolados de *Colletotrichum graminicola*. Os experimentos foram realizados em casa de vegetação do Centro Nacional de Milho e Sorgo (CNPMS), da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA. Foram avaliados 15 materiais (híbridos e linhagens) do programa de melhoramento de milho do CNPMS/EMBRAPA quanto à reação a 9 isolados de *Colletotrichum graminicola*, provenientes de regiões de Colômbia, SP; Palotina, PR; Campo Mourão, PR; Londrina, PR; Ponta Grossa, PR e Xanxerê, SC. O delineamento estatístico usado foi um fatorial 15 x 9 com três repetições. As plantas foram inoculadas artificialmente com suspensão de isolados na concentração 10^5 conídios/mL. Os dados obtidos foram qualitativos, com base nas reações de todos os genótipos a nove isolados de *C. graminicola*. Foi verificado que o híbrido triplo BRS 3003 foi resistente a todos isolados, as linhagens L1; L2; L4 e L6 foram suscetíveis a todos os isolados. Os dados obtidos mostraram evidência da existência de variabilidade fisiológica em *Colletotrichum graminicola*.

Palavras-chave: Antracnose, resistência, variabilidade fisiológica.

CHAPTER 2 – REACTION OF CORN GENOTYPES TO ISOLATED *Colletotrichum graminicola*, IN GREENHOUSE CONDITIONS

2.2 SUMMARY

The purpose of this research was to evaluate the reaction of corn genotypes to isolated *Colletotrichum graminicola*. The experiments were conducted in greenhouse at the Centro Nacional de Milho e Sorgo - CNPMS, of the Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa. 15 substances were evaluated (hybrids and lines) from the program for corn improvement of CNPMS/Embrapa as to the reaction to 9 isolations of *Colletotrichum graminicola*, taken from the regions of Colombia, SP; Palotina, PR; Field Mourão, PR; Londrina, PR; Ponta Grossa, PR and Xanxerê, SC. The statistical method used was a 15 x 9 factorial with three repetitions. The plants were artificially inoculated with isolated suspension in the concentration of 10^5 conidia/mL. The data obtained was qualitative, based on the reactions of all the genotypes the nine isolations of *C. graminicola*. It was verified that the triple hybrid BRS 3003 was resistant to all isolated strains, the lines of L1; L2; L4 and L6 were susceptible to all isolates strains. The data obtained show evidence of existent physiological variability in *Colletotrichum graminicola*.

Key words: Anthracnose, resistance, physiological variability

2.3 Introdução

No Brasil as áreas de produção de milho com perdas substanciais em decorrência da antracnose (*Colletotrichum graminicola*) tem aumentado nos últimos anos. Esta doença passou despercebida durante muitos anos, devido a sua baixa incidência nas lavouras comerciais das principais regiões produtoras. Contudo, com a consolidação do sistema de plantio direto e a não elaboração de um sistema de rotação de culturas adequado e a prática da monocultura em determinadas regiões, têm propiciado o aumento da fonte de inóculo no solo, pela capacidade que o patógeno tem de sobreviver por longos períodos (18 meses) em restos de cultura (FERREIRA & CASELA 2001).

O emprego da resistência genética no controle de doenças vegetais representa um dos maiores avanços tecnológicos da agricultura. O uso de cultivares resistentes é o método de controle preferido por ser mais barato e de mais simples utilização. Em algumas culturas o controle de doenças mais importantes é realizado, quase que exclusivamente, por meio da resistência, tais como as ferrugens e carvões dos cereais e da cana-de-açúcar, as murchas vasculares em hortaliças e as viroses nas maiorias das culturas.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o comportamento de cultivares de milho (híbridos simples, duplos, triplos e linhagens) inoculados com isolados de *C. graminicola*.

2.4 Material e Métodos

Para a realização deste experimento, utilizou-se o laboratório de resistência de plantas e casa de vegetação do Centro Nacional de Milho e Sorgo CNPMS/EMBRAPA - Sete Lagoas - Minas Gerais.

Foram avaliados 15 genótipos de milho do programa de melhoramento de milho do Centro Nacional de Milho e Sorgo CNPMS/EMBRAPA (Tabela 1), quanto à reação a nove isolados de *C. graminicola*, coletados nas regiões de Campo Mourão – PR, Colômbia – SP, Londrina – PR, Palotina – PR, Ponta Grossa – PR e Xanxerê – SC (Tabela 2).

Tabela 1. Características dos genótipos de milho avaliados nos experimentos, em casa de vegetação.

Código	Origem	Híbrido	Ciclo	Cor do Grão	Textura
CMS 101142	CNPMS	Simples	Precoce	Amarelo	Semi-dentado
BRS 1001	CNPMS	Simples	Precoce	Amarelo/alaranjado	Duro
BRS 2020 F	CNPMS	Simples	Precoce	Amarelo	Dentado
BRS 1010	CNPMS	Simples	Precoce	Laranja/avermelhado	Semi-dentado
BRS 2020 M	CNPMS	Simples	Precoce	Amarelo/alaranjado	Duro
CMS 100142	CNPMS	Simples	Precoce	Amarelo/alaranjado	Semi-duro
BRS 2020	CNPMS	Duplo	Precoce	Amarelo/alaranjado	Semi-duro
BRS 2223	CNPMS	Duplo	Super Precoce	Amarelo	Semi-duro
BRS 3003	CNPMS	Triplo	Precoce	Alaranjado	Semi-duro
Linhagem A	CNPMS	Linhagem	Precoce	-	-
Linhagem B	CNPMS	Linhagem	Precoce	-	-
Linhagem C	CNPMS	Linhagem	Precoce	-	-
Linhagem D	CNPMS	Linhagem	Precoce	-	-
Linhagem E	CNPMS	Linhagem	Precoce	-	-
Linhagem F	CNPMS	Linhagem	Precoce	-	-

Fonte: Embrapa Milho e Sorgo.

O plantio foi realizado com 5 sementes por genótipo em vasos plásticos (23 x 18 x 18 cm) em casa de vegetação, com desbaste para 3 plantas, aos 10 dias após a

emergência. O delineamento experimental foi em esquema fatorial 15 x 9, com três repetições. Foi utilizado o genótipo BRS 2223 como testemunha suscetível.

Tabela 2. Isolados de *Colletotrichum graminicola* pertencentes à micoteca da Embrapa Milho e Sorgo – CNPMS testados no experimento de casa de vegetação.

Código do Isolado	Origem	Estado
13.03 M	Xanxerê	Santa Catarina
15.03 M	Londrina	Paraná
16.03 M	Londrina	Paraná
21.03 M	Campo Mourão	Paraná
27.03 M	Ponta Grossa	Paraná
34.03 M	Palotina	Paraná
35.03 M	Palotina	Paraná
36.03 M	Colômbia	São Paulo
37.03 M	Colômbia	São Paulo

Fonte: Laboratório de Resistência de Plantas a Doenças/EMBRAPA – CNPMS.

Os isolados de *C. graminicola* foram obtidos junto à micoteca do Centro Nacional de Milho e Sorgo EMBRAPA/CNPMS, classificados e codificados pelo seu potencial de patogenicidade.

Os isolados utilizados nos ensaios foram conservados em meio de cultura farinha de aveia-ágar (FAA) (GUIMARÃES, 1996), contidos em tubos de ensaios e recobertos por óleo mineral esterilizado. Para produção de inóculo, esses isolados foram repicados para placas de Petri contendo meio FAA (60 gramas de farinha de aveia, 20 gramas de ágar), e mantidos à temperatura ambiente de $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 7 dias (GUIMARÃES, 1996).

Durante o crescimento do fungo observou-se uma formação intensa de micélio que impedia a esporulação. Para corrigir este fato foi realizada raspagem do micélio com auxílio de uma alça de platina, quatro dias após a repicagem.

O preparo da inóculo foi realizado com a adição de 10 mL da solução de Tween 80 a 0,02% em cada placa de Petri e raspagem com uma lâmina de microscopia para liberação dos esporos. A suspensão de micélio e esporos foi coada em gase estéril

para eliminação de meio de cultura e micélio. O inóculo foi ajustado à concentração de 10^5 conídios/mL. (NAKAMURA, 1982).

As inoculações foram realizadas em condições de casa de vegetação, pela pulverização das plantas aos 15 dias após emergência, até o ponto de escorrimento, com auxílio de um pulverizador manual Uni-spray – modelo 2000. Após a inoculação, as plantas foram colocadas em câmara úmida por 18 horas à temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$. Foram realizadas mais duas reinoculação aos 22 e 29 dias após emergência das plantas.

A avaliação da resistência ou suscetibilidade das plantas foi realizada sete dias após a primeira inoculação. Foi empregada na avaliação a escala de notas proposta por (FERREIRA & CASELA, 1986), e adaptada para a cultura do milho, onde as notas 1, 2 e 3 são indicativas de reação de resistência e as notas maiores que 3 indicativas de suscetibilidade, onde:

Nota 1,0 Ausência de sintomas.

Nota 1,5 a 2,0 Infecção leve, presença de pequeno número de lesões alongadas sem esporulação, com até 10% da área foliar afetada.

Nota 2,1 a 2,5 Infecção leve a moderada, presença de lesões alongadas sem esporulação ou de reação de hipersensibilidade, com até 11% a 15% da área foliar afetada.

Nota 2,6 a 3,0 Infecção severa com grande número de lesões esporulantes e com alguma coalescência, de 16% a 20%.

Nota 3,1 a 4,9 Infecção severa com grande número de lesões esporulantes e com alguma coalescência, de 21% a 40% da área foliar afetada.

Nota 5,0 Infecção muito severa, com lesões abundantes e coalescidas. Mais de 40% da área foliar afetada.

2.5 Resultados e Discussão

Os dados obtidos foram qualitativos, baseando-se nas reações de todos os genótipos em função da escala de notas descrita anteriormente (Tabela 3).

Os resultados mostraram que o híbrido triplo BRS 3003 foi resistente a todos isolados de *C. graminicola* e o híbrido duplo BRS 2020 foi suscetível aos isolados 13.03/Xanxerê – Santa Catarina; 16.03/Londrina – Paraná e 34.03/Palotina – Paraná e resistente aos demais. Os híbridos simples BRS 1001, BRS 1010, BRS 1030 e híbrido duplo BRS 2223 apresentaram suscetibilidade a todos os isolados. O híbrido parental BRS 2020 F apresentou resistência ao isolado 35.03/Palotina – Paraná e suscetibilidade aos demais; BRS 2020 M apresentou resistência aos isolados 15.03/Londrina – Paraná; 27.03/Ponta Grossa – Paraná; 34.03/Palotina – Paraná e 35.03/Palotina – Paraná e suscetível aos demais. O híbrido simples CMS 101142 apresentou resistência aos isolados 16.03/Londrina – Paraná e 35.03/Palotina – Paraná. As linhagens L1, L2, L4 e L6 foram suscetíveis a todos os isolados, a Linhagem 3 apresentou resistência aos isolados 15.03/Londrina – Paraná; 16.03/Londrina – Paraná; 34.03/Palotina – Paraná e 35.03/Palotina – Paraná e suscetibilidade aos demais. A linhagem 5 apresentou resistência somente ao isolado 35.03/ Palotina – Paraná e suscetibilidade aos demais.

Pode-se observar pelos resultados que a maior variabilidade genética nos híbridos conferiu uma maior resistência ao patógeno.

Os resultados mostraram que existe variabilidade na virulência de *C. graminicola*, isolados provenientes de diferentes regiões produtoras, variabilidade esta já relatada por (WHITE et al. 1987; FORGEY et al. 1978; NICHOLSON & WARREN, 1976).

De acordo com os dados obtidos no experimento existe evidência da existência de raças de *C. graminicola* entre os isolados testados, a mesma evidência foi sugerida por FORGEY et al. (1978).

Há necessidade de se padronizar um método de estudo de raças fisiológicas de *C. graminicola*, para termos comparação entre os resultados de diferentes Instituições de Pesquisa.

Tabela 3. Resposta de 15 genótipos de milho a nove isolados de *Colletotrichum graminicola*, em casa de vegetação, Sete Lagoas – MG, 2005.

Genótipos	Isolados/reação ⁽¹⁾								
	13.03	15.03	16.03	21.03	27.03	34.03	35.03	36.03	37.03
CMS 101142	S	S	R	S	S	S	R	S	S
BRS 1001	S	S	S	S	S	S	S	S	S
BRS 2020 F	S	S	S	S	S	S	R	S	S
BRS 1010	S	S	S	S	S	S	S	S	S
BRS 2020 M	S	R	S	S	R	R	R	S	S
CMS 100142	S	S	S	S	S	S	S	S	S
BRS 2020	S	R	S	R	R	S	R	R	R
BRS 2223	S	S	S	S	S	S	S	S	S
BRS 3003	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Linhagem A	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Linhagem B	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Linhagem C	S	R	R	S	S	R	R	S	S
Linhagem D	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Linhagem E	S	S	S	S	S	S	R	S	S
Linhagem F	S	S	S	S	S	S	S	S	S

⁽¹⁾ S= Suscetível; R= Resistente

3. CAPITULO 3 – REAÇÃO DE HÍBRIDOS DE MILHO A ISOLADOS DE *colletotrichum graminicola*, EM CONDIÇÕES DE CAMPO

3.1 RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar híbridos de milho, quanto à resistência a *Colletotrichum graminicola* (Ces.) G.W.Wils., em condições de campo. Foram realizadas inoculações com isolados da micoteca Embrapa - Milho e Sorgo, Sete Lagoas, Minas Gerais. O experimento foi instalado em dois locais: Fazenda Experimental da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal (FCAV/UNESP), no início de dezembro de 2004, e no Centro Nacional de Milho e Sorgo (CNPMS/EMBRAPA) em Sete Lagoas – MG, no início de janeiro de 2005. Foram avaliados nove híbridos, distribuídos em blocos ao acaso. A inoculação foi realizada no estágio fenológico V3. O inóculo foi preparado pela mistura de dez isolados de *Colletotrichum graminicola* e a concentração foi ajustada a 10^5 conídios/mL. As avaliações da severidade foram semanais em todas as parcelas a partir do sétimo dia da inoculação pela escala de notas de 1 a 5, sendo 1= Ausência de sintomas; 2= Infecção leve, presença de pequeno número de lesões alongadas sem esporulação, com até 10% da área foliar afetada; 3= Infecção leve a moderada, presença de lesões alongadas sem esporulação ou de reação de hipersensibilidade, com até 20% da área foliar afetada; 4= Infecção severa com grande número de lesões esporulantes e com alguma coalescência, de 21% a 40% da área foliar afetada 5= Infecção muito severa, com lesões abundantes e coalescidas apresentando mais de 40% da área foliar afetada. Foi calculado o valor da área abaixo da curva de progresso de doença (AACPD). Os menores valores para AACPD no ensaio realizado em Jaboticabal foram identificados nos genótipos BRS 3003 (híbrido triplo), seguido do BRS 2020 (híbrido duplo). No ensaio realizado em Sete Lagoas, os menores

valores de AACPD foram para os híbridos BRS 3003 e CMS 101142 (híbrido simples). Em geral, o híbrido BRS 3003 apresentou os menores valores da AACPD, sugerindo que a maior variabilidade genética (intercruzamento de três genótipos) desse material conferiu maior resistência ao o patógeno.

Palavras-chave: *Zea mays*, antracnose, resistência.

3. CHAPTER 3 – REACTION OF CORN HIBRIDS TO ISOLATED *colletotrichum graminicola*, IN FIELD CONDITIONS

3.2 SUMMARY

The purpose of the research was to evaluate corn hybrids, in regards to resistance to *Colletotrichum graminicola*, (Ces.) G.W.Wils., in field conditions. Inoculations were conducted with the isolates from micoteca Embrapa – Milho e Sorgo, Sete Lagoas, Minas Gerais. The experiment was conducted in two locations: Fazenda Experimental da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal (FCAV/Unesp), in the beginning of December 2004, and at the Centro Nacional de Milho e Sorgo (CNPMS/EMBRAPA) in Sete Lagoas – MG, in the beginning of January 2005. Nine hybrids were evaluated, distributed in random blocs. The inoculation was done during the phenological stage V3. The inoculant was prepared by the mixture of ten isolated *Colletotrichum graminicola* and the concentration was adjusted to 10^5 conidia/mL. The evaluation of severity was weekly in all the parcels, starting the 7th day after inoculations using the scale of 1 to 5: 1= Being the absence of symptoms; 2= Slight infection, the presence of a small number of elongated lesions without spores, with up to 10% of leaf surface area affected; 3= Slight to moderate infection, the presence of elongated lesions without spores or hypersensitivity reaction, with up to 20% of leaf surface area affected; 4= Severe infection, with a large number of lesions with spores and some coalescence, bet 21% to 40% of leaf surface area affected; 5= very severe infection, with numerous lesions coalescence, with more than 40% of leaf surface area affected. The value of the area below the curve of infection progress was calculated (AUDPC). The lowest values of AUDPC in the test plot in Jaboticabal were identified in the genotypes BRS 3003 (simple hybrid), followed by BRS 2020 (double hybrid). In the test conducted in Sete Lagoas, the best values of the

AUDPC were from the hybrid BRS 3003 (triple hybrid) and CMS 101142 (simple hybrid). In general, the hybrid BRS 3003 showed the lowest values for AUDPC, suggesting that greater genetic variability (intercrossing of three genotypes) of this material, conferred a greater resistance to the pathogen.

Key words: *Zea mays*, *Colletotrichum graminicola*, resistant, genotype.

3.3 Introdução

Na safra 2004/2005 a produção brasileira de milho (*Zea mays* L.) representou 26,03% e 7,29%, respectivamente para safra verão e safrinha, de um total de 113.892,4 milhões de toneladas de toda produção nacional de grãos (cereais, leguminosas e oleaginosas). Na safra 2005/2006 a produção nacional alcançou 122.562,4 milhões de toneladas. Tal valor correspondeu a um incremento de 7,61% em relação à safra 2004/2005. Destes valores, 4,4% deve ser atribuído à ocupação por parte do milho (1ª safra) na região centro-oeste, em áreas destinadas à soja (CONAB, 2006). Tal cenário, portanto, dado à descontinuidade espaço-temporal favorece o desenvolvimento de vários patógenos, tendo em vista o plantio quase o ano inteiro de determinadas culturas.

Nos últimos anos, a área plantada com milho vem crescendo consideravelmente e parte deste aumento deve-se ao desenvolvimento de híbridos mais produtivos, ao avanço da cultura na região centro-oeste e à consolidação do plantio de segunda época (safrinha).

Com o aumento da área plantada e das sucessões de cultivo, sem a devida rotação de cultura, desencadeou-se um aumento de diversas doenças até então consideradas de importância secundária para a cultura (SILVA, 1997; FANCELLI & DOURADO NETO, 2000). Dessas doenças, a antracnose causada por *Colletotrichum graminicola* (Ces.) G.W.Wils. foi a que apresentou maior ocorrência (NAYLOR & LEONARD, 1977), aliado ao fato da adaptação do patógeno ao sistema de plantio direto, uma vez que o fungo pode sobreviver em restos culturais por até dez meses, promovendo desta forma significativas perdas na produção, em todo o mundo.

Nos Estados Unidos, epidemias severas com *C. graminicola* chegaram a inviabilizar a cultura do milho doce no Estado de Indiana, durante dois anos após o seu aparecimento. Os efeitos do patógeno contribuíram para uma redução de até 40% na produção de milho, isso devido a genótipos suscetíveis, ambientes

favoráveis e estágio de desenvolvimento da planta suscetível (WARREN et al., 1973; BERGSTRON & NICHOLSON, 1999).

No Brasil, esse fungo está amplamente distribuído nas regiões produtoras de milho (CRUZ et al., 1996; BARBOSA, 2001). Porém, a literatura é escassa em estudos relativos a esse patossistema (BARBOSA, 2001). O primeiro relato da doença na cultura do milho, no país, foi no município de Campinas, Estado de São Paulo, em área de produção de sementes híbridas, no ano de 1965 (SILVEIRA et al. 1965). Esse patógeno tem causado diferentes danos em todas as regiões produtoras (PONTES, 1987; FERNANDES & BALMER, 1990; CRUZ et al., 1996). Neste sentido, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o comportamento de híbridos de milho em relação a *C. graminicola*, sob condições de campo em inoculações artificiais.

3.4 Material e Métodos

O trabalho foi realizado no município de Jaboticabal, SP, na área da Fazenda Experimental da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV/UNESP), e no município de Sete Lagoas, MG, na área Experimental da EMBRAPA Milho e Sorgo. A semeadura do milho em Jaboticabal foi realizada em dezembro de 2004, e a de Sete Lagoas em janeiro de 2005.

Foram avaliados nove híbridos de milho: BRS 1001, BRS 1010, BRS 2020, BRS 2020 F, BRS 2020 M, BRS 2223, BRS 3003, CMS 100142 e CMS 101142 quanto à reação à mistura de 10 isolados de *C. graminicola*. Adotou-se delineamento de blocos ao acaso com três repetições, e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey. Utilizou-se 400 kg ha⁻¹ da formula 08-20-18 na adubação de plantio, a adubação de cobertura foi realizada utilizando-se 100 kg ha⁻¹ de uréia. Todos os tratamentos foram instalados em parcelas constituídas de quatro fileiras de cinco metros, espaçadas a 0,80 metros. As duas linhas centrais

constituíram a área útil da parcela. Com a finalidade de se obter maior exposição ao patógeno dos híbridos avaliados, foi utilizado o híbrido BRS 2223 como bordadura de parcelas, por ser suscetível ao *C. graminicola*.

Para a produção do inóculo foram utilizados 10 isolados de *C. graminicola* da micoteca do CNPMS/Embrapa (Tabela 4). Os isolados foram cultivados em placas de Petri contendo meio de farinha de aveia (FAA), segundo GUIMARÃES (1996), cuja composição é: 20 gramas de ágar, 60 gramas de farinha de aveia + tetraciclina. O inóculo foi preparado pela adição de 10 mL de solução de Tween 80% a 0,02% em cada placa de Petri, seguindo-se raspagem superficial com pincel para liberação dos conídios. Para a eliminação dos fragmentos de micélios e de meio de cultura, as suspensões de cada isolado foram filtradas em gaze estéril, sendo ajustadas (cada uma) para concentração de 10^5 conídios/mL.

As inoculações foram realizadas no estágio fenológico V3, (50% das plantas com 12 folhas completamente desenvolvidas), pulverizando-se as plantas, até o ponto de escurimento (FERREIRA & CASELA, 1986).

As avaliações da severidade da doença foram iniciadas a partir do sétimo dia após a primeira inoculação. Foram realizadas avaliações nas seis semanas posteriores, pela escala diagramática estabelecida por SHARMA (1983), e adaptada para a cultura do milho, com notas de 1 a 5 com base na área foliar afetada, onde: 1= Ausência de sintomas; 2= Infecção leve, presença de pequeno número de lesões alongadas sem esporulação, com até 10% da área foliar afetada; 3= Infecção leve a moderada, presença de lesões alongadas sem esporulação ou de reação de hipersensibilidade, com até 20% da área foliar afetada; 4= Infecção severa com grande número de lesões esporulantes e com alguma coalescência, de 21% a 40% da área foliar afetada 5= Infecção muito severa, com lesões abundantes e coalescidas apresentando mais de 40% da área foliar afetada.

Tabela 4. Isolados de *Colletotrichum graminicola* pertencentes à micoteca da Embrapa Milho e Sorgo – CNPMS testado nos experimentos de campo.

Código	Origem	Estado
13.03 M	Xanxerê	Santa Catarina
15.03 M	Londrina	Paraná
16.03 M	Londrina	Paraná
21.03 M	Campo Mourão	Paraná
26.03 M	Ponta Grossa	Paraná
27.03 M	Ponta Grossa	Paraná
34.03 M	Palotina	Paraná
35.03 M	Palotina	Paraná
36.03 M	Colômbia	São Paulo
37.03 M	Colômbia	São Paulo

Foram avaliadas todas as plantas da área útil de todas as parcelas, sendo calculada a severidade média para cada parcela. Os dados de severidade foram transformados em valores abaixo da área de progresso de doença (AACPD), utilizando o programa AVACPD, desenvolvido por (TORRES & VENTURA 1991), com base na equação citada por (SHANER & FINNEY, 1977):

$$AACPD = \sum_{i=1}^n [(Y_{i+n1} + Y_i)/2] [(T_{i+1} - T_i)]$$

onde: Y_i é a severidade de doença na i-ésima observação;

t_i é o tempo em dias na i-ésima observação;

n é o número de observações

Os dados de AACPD foram submetidos à análise de variância e teste de médias (Tukey 5%).

3.5 Resultados e Discussão

Os dados obtidos no experimento realizado em Jaboticabal possibilitaram a classificação dos híbridos de milho por grupos de reação. Os híbridos BRS 3003 e BRS 2020 apresentaram as menores médias de AACPD, não se registrando diferença significativa entre eles, podendo, ser considerados como resistentes. O híbrido BRS 2223, utilizado como testemunha padrão de suscetibilidade apresentou resistência intermediária, não sendo registrada diferença significativa deste em relação aos híbridos BRS1001 e CMS101142, que também foram classificados como de resistência intermediária. Os híbridos BRS 1010, BRS 2020 M e BRS 2020 F não diferiram estatisticamente entre si, sendo classificados como suscetíveis. A maior AACPD (92,40) foi registrada no genótipo CMS 100142, sendo considerado como de alta suscetibilidade à antracnose foliar neste local (Tabela 5).

Tabela 5. Reação de híbridos de milho a *Colletotrichum graminicola*⁽³⁾, avaliada pela área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), na região de Jaboticabal – São Paulo.

Híbridos	Tipo de híbrido	Severidade da antracnose	
CMS 100142	Simples	92,40	a
BRS 1010	Simples	82,83	b
BRS 2020 M	Simples	81,20	b
BRS 2020 F	Simples	81,08	b
BRS 2223	Duplo	71,98	c
BRS 1001	Simples	70,12	c
CMS 101142	Simples	68,48	c
BRS 2020	Duplo	61,72	d
BRS 3003	Tripla	56,58	d
Dms		6,75	
CV(%)		3,92	

Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

⁽³⁾ Mistura de 10 Isolados.

Os resultados obtidos em Sete Lagoas – MG confirmaram em parte aqueles obtidos em Jaboticabal; o híbrido BRS 3003 apresentou resistência ao patógeno, como o encontrado em Jaboticabal – SP. Por sua vez, o CMS 101142 apresentou resistência intermediária e não diferiu estatisticamente do híbrido CMS 100142. Este híbrido, de reação intermediária, não apresentou diferença significativa em relação aos híbridos BRS 2223, BRS 1010, BRS 2020 M, BRS 1001 e BRS 2020. Os quais com exceção do CMS 100142 também não diferiram do BRS 2020 F que apresentou o maior índice de suscetibilidade ao patógeno.

Tabela 6. Reação de híbridos de milho a *Colletotrichum graminicola*⁽⁴⁾, avaliada pela área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), na região de Sete Lagoas – Minas Gerais.

Híbridos	Tipo de híbrido	Severidade da antracnose	
BRS 2020 F	Simple	51,92	a
BRS 2020	Duplo	50,75	ab
BRS 2020 M	Simple	48,42	abc
BRS 1010	Simple	48,42	abc
BRS 1001	Simple	47,83	abc
BRS 2223	Duplo	47,25	abc
CMS 100142	Simple	46,08	bc
CMS 101142	Simple	44,92	c
BRS 3003	Triplo	30,92	c
Dms		5,74	
CV(%)		5,33	

Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

⁽⁴⁾ Mistura de 10 Isolados.

Em ambos os ambientes experimentais observaram-se condições (Figura 1) satisfatórias para o desenvolvimento da doença o que possibilitou verificar a influência da diversidade genética dos híbridos estudados no progresso da doença. Foi possível dividir os tratamentos em três grupos para os níveis de reação de acordo com análise das médias de AACPD conjunta: suscetíveis, intermediários e resistentes. Contudo, observou-se uma maior pressão da doença

em Jaboticabal, onde os valores de AACPD foram superiores aos de Sete Lagoas (Tabela 7).

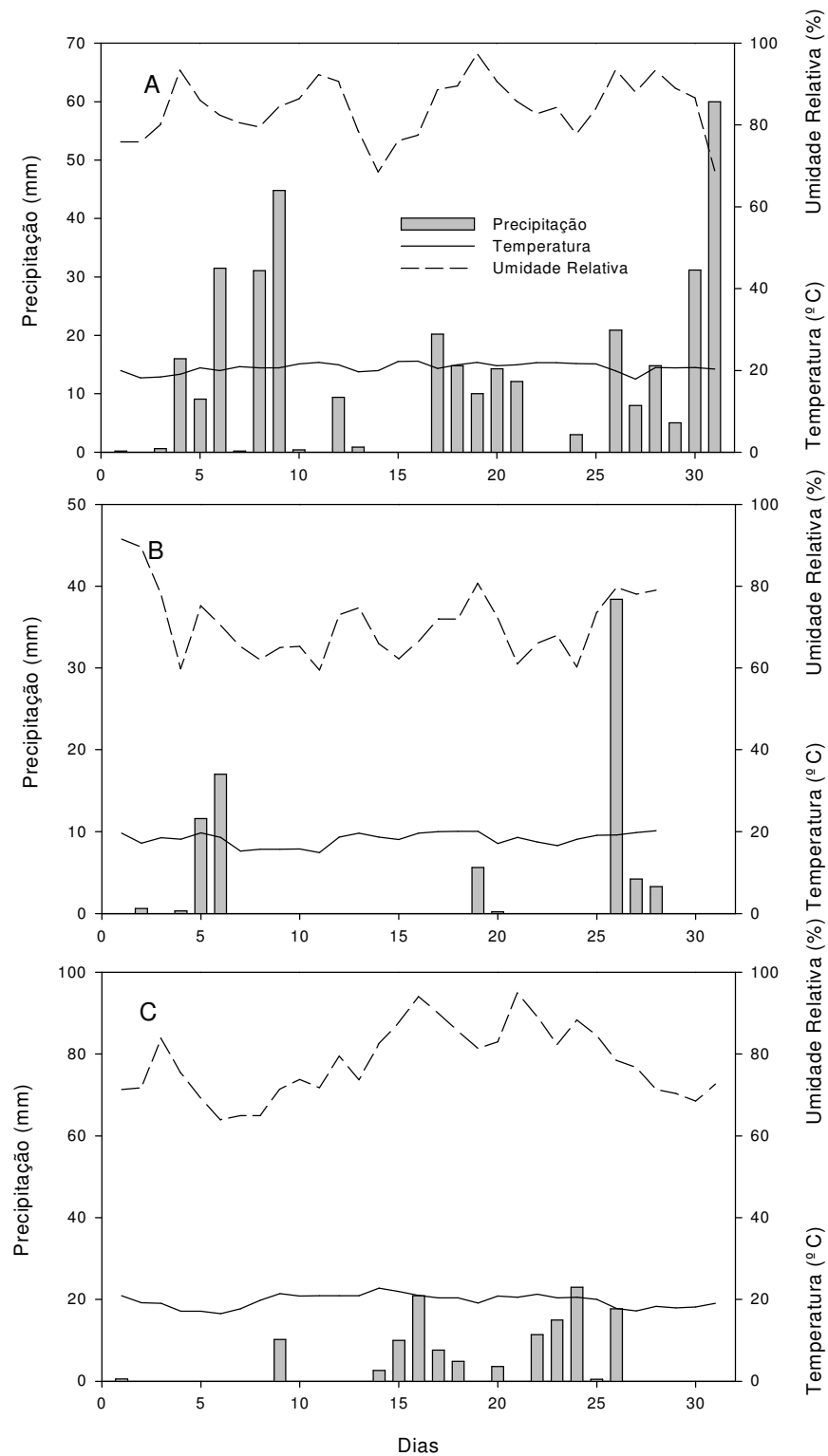


Figura 1. Dados climatológicos para o município de Jaboticabal – SP, nos meses de: A) janeiro; B) fevereiro e C) março de 2005.

Tabela 7. Avaliação conjunta da reação de híbridos de milho a *Colletotrichum graminicola*⁽⁵⁾, avaliados em Jaboticabal – SP e Sete Lagoas – MG.

Híbridos	Pedigree	Severidade da antracnose foliar			
		Jaboticabal	Sete Lagoas	Média	
CMS 100142	L1 x L5	92,40 Aa	46,08 Ba	69,24	a
BRS 1010	L1 x L3	82,83 Ab	48,25 Ba	65,54	a
BRS 2020 M	L4 x L3	81,20 Ab	50,75 Ba	64,81	a
BRS 2020 F	L1 x L2	81,08 Ab	51,91 Ba	66,50	a
BRS 2223	Testemunha	71,98 Ac	47,25 Ba	59,61	b
BRS 1001	L1 x L4	70,11 Ac	47,83 Ba	58,97	b
CMS 101142	L1 x L6	68,48 Acd	44,91 Ba	56,70	b
BRS 2020	(L1 x L2) x (L4 x L3)	61,71 Ade	50,75 Ba	56,23	b
BRS 3003	L1 x (L4 x L3)	56,58 Ae	30,91 Bb	43,70	c
Dms				5,11	
				1462,2	
Ambiente				2	**
Tratamento (Híbridos)				52,01	**
Interação (Ambiente x Híbridos)				17,63	**
Dms 1 (Locais d. Híbridos)				7,23	
Dms 2 (Híbridos d. Locais)				4,45	
CV(%)		3,92	5,33	4,44	

Médias seguidas da mesma letra maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

⁽⁵⁾ Mistura de 10 Isolados.

Não foi verificada diferença significativa entre blocos, o que indica a ocorrência de boa dispersão do inóculo dentro do experimento. O híbrido BRS 3003 apresentou AACPD de 56,58 e 30,91, em Jaboticabal e Sete Lagoas, respectivamente, sendo estes os menores valores observados. Tal resultado sugere que a maior diversidade genética deste material conferiu resistência ao patógeno. O intercruzamento de três genótipos pode ter contribuído para aumentar a frequência de plantas com mais de um gene de resistência e ampliada a diversidade genotípica, que é uma característica da estratégia de multilinhas dinâmicas (WILSON et al. 1994) (Tabela 8).

Tabela 8. Quadro de análise de variância conjunta para avaliação da reação de híbridos de milho a *Colletotrichum graminicola* em Jaboticabal – SP e Sete Lagoas – MG.

Causas da variação	gl	SQ	QM	F
Blocos	2	11,54	5,77	0,81 ^{NS}
Ambiente	1	10422,22	10422,22	1462,22 **
Híbridos	8	2966,09	370,76	52,01 **
Interação				
Interação (Híbridos x Ambiente)	8	1005,49	125,68	17,63 **
Resíduo	34	242,33	7,12	
Total	53	14647,69		
Coeficiente de variação				4,43

O uso de genótipos geneticamente uniformes pode contribuir para a ocorrência de elevados índices de doenças (epidemias), como foi observado para o cancro da haste ocorrido no início dos anos 90, na cultura da soja que utiliza linhas puras. Nos dados obtidos, o híbrido CMS 100142 confirma esta possibilidade, dada a sua resistência intermediária em Sete Lagoas e suscetibilidade em Jaboticabal. Esta variação pode ter sido determinada por diferenças nas condições ambientais atuando e favorecendo um determinado isolado melhor adaptado às linhagens componentes do híbrido simples (Figura 2).

PARLEVLIET (1979) relata que as multinhas mostram seus efeitos na redução do inóculo inicial e na taxa de infecção aparente, sendo a proporção inicial do tecido afetado inferior quando comparado com a linha pura suscetível. Segundo este pesquisador, tal efeito biológico se aplica para todas as raças que não apresentem o gene de virulência correspondente para a composição da multilinha.

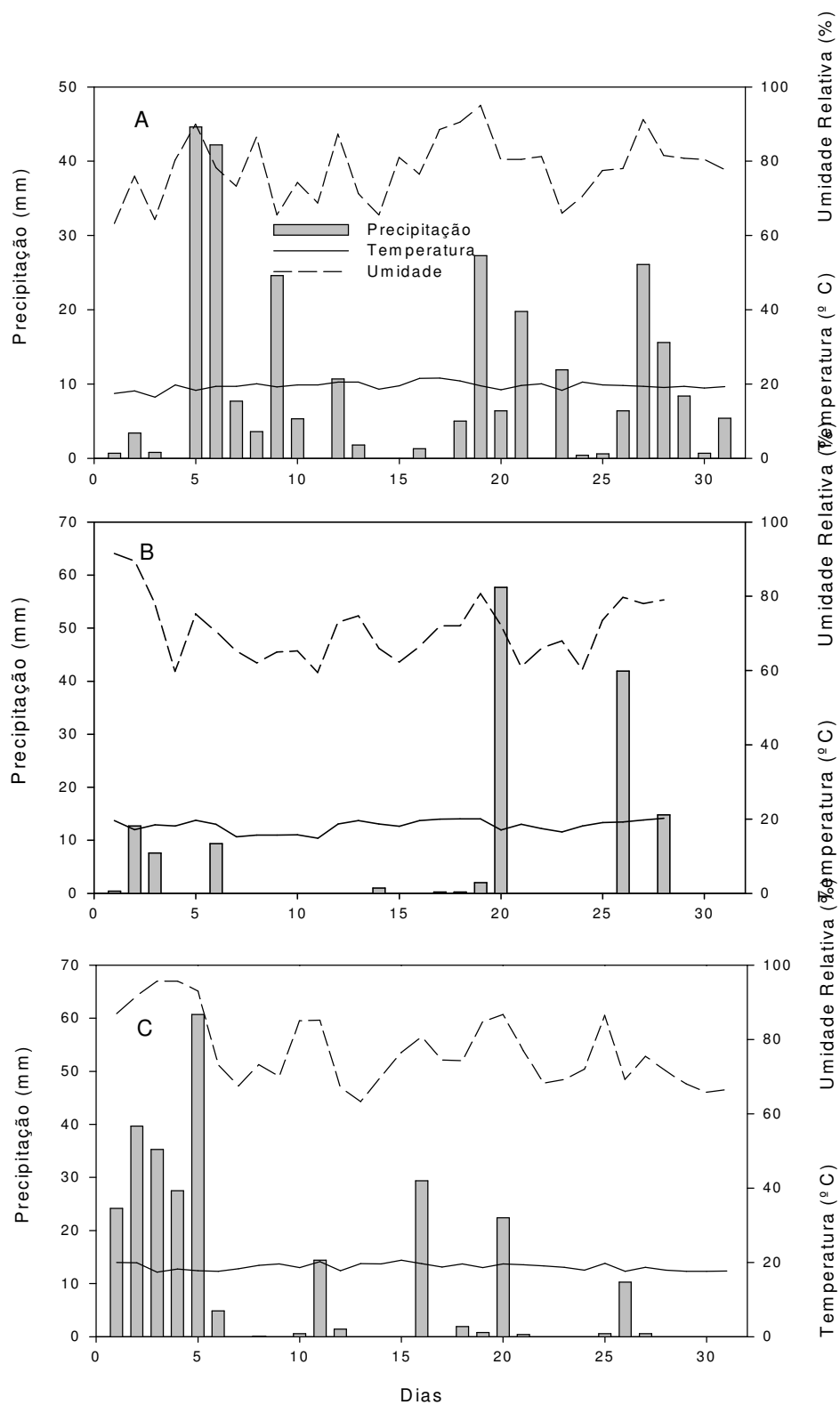


Figura 2. Dados climatológicos para o município de Sete Lagoas – MG, nos meses de: A) janeiro; B) fevereiro e C) março de 2005.

TOPSOBA & WILSON (1999) usou diferentes híbridos de milho, distribuídos em misturas simples de genótipos, populações em acasalamento ao acaso e misturas de híbridos simples e triplos e obtiveram diferentes níveis de complexidade, através do aumento da heterogeneidade dos genes de resistência. Registraram, para misturas com cruzamentos ao acaso e misturas de cruzamentos, valores de AACPD menores que a média dos componentes. Resultados semelhantes foram obtidos com os híbridos BRS 3003 e BRS 2020. As combinações de linhagens para obtenção de híbridos triplos a partir de genótipos contendo diferentes genes de resistência podem resultar em 25% dos indivíduos na população com esses genes oriundos das três linhagens; 50% dessa forma de duas linhagens, e 25% podem ter genes de resistência provenientes de uma linhagem, essas combinações contribuem para o aumento do número de fenótipos resistentes através das possíveis combinações dos genes de resistência provenientes das linhagens em um único genótipo (TOPSOBA & WILSON, 1999).

O uso de multilinhas e misturas de cultivares tem contribuído para a diversificação de genes de resistência a doenças na população hospedeira, contribuindo desta forma para o manejo de epidemias de muitos patógenos foliares (PYNDJI & TRUTMANN, 1992). A utilização de diversidade genética deve ser encarada como uma forma de manejo dentro de um contexto maior (Manejo Integrado de Doenças), de forma coordenada e com conhecimento das populações dos patógenos. Nesse contexto, a utilização de híbridos triplos irá proporcionar uma maior diversificação genética dos genes de resistência dentro da população, conferindo dessa forma, níveis diferenciados de resistência no mesmo híbrido.

Um outro aspecto a ser considerado é o fato da eficiência de populações geneticamente diversas do hospedeiro reduzir patógenos que apresentam uma alta taxa de autoinfecção, que é diretamente pelo modo de dispersão do patógeno e pelo tamanho da planta hospedeira (GARRET & MUNDT, 1999; MUNDT, 2002). Considerando-se ser *C. graminicola* um patógeno que se dispersa por respingos

de chuva e o porte do milho era de se esperar uma menor eficiência dos híbridos triplos na redução da severidade da antracnose. Aparentemente a diversidade gerada pelo inter cruzamento entre as linhagens componentes dos híbridos triplos e duplos foi suficiente para promover um controle satisfatório da antracnose.

4. CONCLUSÕES FINAIS

1. *Colletotrichum graminicola* apresenta variabilidade na patogenicidade em diferentes genótipos de milho.
2. Genótipos de milho com uma maior variabilidade genética apresentam maior resistência ao *Colletotrichum graminicola*.
3. Existe evidência de raças fisiológicas de *Colletotrichum graminicola* entre os isolados testados.
4. O Híbrido triplo de milho BRS 3003 apresenta a maior resistência à antracnose foliar do milho.
5. A utilização de linhagens, em híbridos duplos e/ou triplos (multilinhas dinâmicas) mostra-se eficiente para o controle da antracnose foliar do milho.
6. Os genótipos de milho testados podem ser classificados com resistentes, suscetíveis e de resistência intermediária a *Colletotrichum graminicola*.
7. Sugere-se a elaboração de um grupo de variedades de milho, diferenciadoras de raças de *Colletotrichum graminicola*, para padronização de método e possibilidade de comparação dos resultados obtidos em diferentes Instituições de Pesquisa.

5. REFERÊNCIAS

BARBOSA, M. P. M. **Variabilidade patogênica de *Colletotrichum graminicola* isolado de milho (*Zea mays* L.)** 2001. 112 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

BERGSTROM, G. C.; NICHOLSON, R. L. Effect of the *Colletotrichum graminicola* conidial matrix on the development of anthracnose seedling blight in maize. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 8, n. 3, p. 447-453, 1983.

BERGSTROM, G. C.; NICHOLSON, R. L. The biology of corn anthracnose. **Plant Disease**, St. Paul, v. 83, n. 7, p. 596-608, 1999.

BROWNING, J. A.; FREY, K. J. Multiline cultivars as a means of disease control. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 7, p. 355 – 382, 1969.

CARDWELL, K. F.; COLLINS, S. D.; FREDERIKSEN, R. A. Dilatory resistance character of sorghum hybrids as measured by area under the disease progress curve. **Biological and Cultural Tests for Control of Plant Diseases**, St. Paul, v. 3, n. 1, p. 36, 1988.

CARDWELL, K. F.; HEPPELY, P. R.; FREDERIKSEN, R. A. Pathotypes of *Colletotrichum graminicola* and seed transmission of sorghum anthracnose. **Plant Disease**, St. Paul, v. 73, n. 3, p. 255 – 257, 1989.

CARSON, M. L.; HOOKER, A. L. Inheritance of resistance to anthracnose leaf blight in five inbred lines of corn. **Phytopathology**, St. Paul, v. 71, n. 5, p. 488 – 491, 1981a.

CARSON, M. L.; HOOKER, A. L. Inheritance of resistance to stalk rot in a corn inbred lines. **Phytopathology**, St. Paul, v. 71, n. 11, p. 1190 – 1196, 1981b.

CASELA, C. R.; FERREIRA, A. S. Variabilidade e estrutura de virulência em *Colletotrichum graminicola* em sorgo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 3, p. 357-361, 1996.

CASELA, C. R.; FERREIRA, A. S. **Antracnose do sorgo (*Colletotrichum graminicola*)**. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 1998. 19p (Circular Técnica, 28).

CASELA, C. R.; FREDERIKSEN, R. A. Pathogenic variation in monoconodial culture from a single lesion and monoconodial subcultures of the sorghum anthracnose fungus *Colletotrichum graminicola*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 19, n. 2, p. 149-153, 1994.

CASELA, C. R.; FERREIRA, A. S.; SANTOS, F.G. Differences in competitive ability among races of *Colletotrichum graminicola* in mixture. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 2, p. 217-219, 2001.

CASELA, C. R.; SANTOS, F. G.; FERREIRA, A. S. Associação de patogenicidade e diversidade fenotípica de *Colletotrichum graminicola* agente causal da antracnose em sorgo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 3, p. 517-521, 2000.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **3º levantamento - avaliação da safra agrícola 2005/2006**, Brasília, 2006. Disponível em:< <http://www.conab.br>> Acesso em: 20 jan. 2006

CRUZ, C. D. Componentes de variância genotípica. In: CRUZ, C. D. **Princípios de genética quantitativa**. Viçosa: Editora UFV, 2005. p. 109-150.

CRUZ, J. C.; MONTEIRO, J. A.; SANTANA, D. P. **Agricultura real**: recomendações técnicas para a cultura do milho. 2. ed. Brasília, 1996. 204 p

FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. **Produção de milho**. Guaíba: Agropecuária, 2000. 260 p.

FERNANDES, F. T.; BALMER, E. Situação das doenças de milho no Brasil. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 14, n. 165, p. 35-37, 1990.

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

FERREIRA, A. S.; CASELA, C. R. **Antracnose do milho (*Colletotrichum graminicola*)**. Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 2001. 6 p (Circular Técnica, 13).

FERREIRA, A. S.; CASELA, C. R. Raças patogênicas de *Colletotrichum graminicola*, agente causal da antracnose do sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.11, n. 1, p. 83-86, 1986.

FORGEY, W. M.; BLANCO, M. H.; LOEGERING, W. Q. Differences in pathological capabilities and host specificity of *Colletotrichum graminicola* on *Zea mays*. **Plant Disease Reporter**, St. Paul, v. 62, n. 7 p. 573-576, 1978.

FREDERIKSEN, R. A.; ROSENOW, D. T. Disease resistance in sorghum. In: Annual Corn and Sorghum Research Conference, 26., 1971, Washington, D.C, **Proceedings...**, p. 71-82.

GARRET, K. A.; MUNDT, C. C. Epidemiology in mixed host populations. **Phytopathology**, St. Paul, v. 89, n. 11, p. 984-990, 1999.

GUIMARÃES, F. B. **Resistência dilatória à antracnose (*Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wilson) do sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench)**. 1996. 51 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1996.

GUIMARAES, F. B.; CASELA, C. R.; SANTOS, F. G. dos; RIBEIRO DO VALE, F. X. **Avaliação do controle da antracnose (*Colletotrichum graminicola* L.) através de mistura de genótipos de sorgo (*Sorghum bicolor* L.)**. Londrina: IAPAR, 1996. p. 316.

GUIMARÃES, F. B.; CASELA, C. R.; SANTOS, F. G. dos; FERREIRA, A. S. Controle da antracnose do sorgo através da utilização de misturas de cultivares. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 24, n. 2, p. 131-135, 1998a.

GUIMARAES, F. B.; CASELA, C. R.; VALE, F. W. R.; ZAMBOLIM, L.; SANTOS, F. G. dos. Estabilidade fenotípica e previsibilidade da resistência de genótipos de sorgo a *Colletotrichum graminicola*. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 24, n. 1-2, p. 141-145, 1998b

GUIMARAES, F. B.; CASELA, C. R.; SANTOS, F. G. dos; FERREIRA, A. S. Avaliação da resistência de genótipos de sorgo a antracnose. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 25, n. 1, p. 9-13, 1999.

JAMIL, F. F.; NICHOLSON, R. L. Susceptibility of corn to isolates of *Colletotrichum graminicola* pathogenic to other grasses. **Plant Disease**, St. Paul, v. 71, n. 9, p. 809-810, 1987.

JEGER, M. J.; GRIFFITHS, E.; JONES, D. G. Disease progress of non-specialized fungal pathogens in intraspecific mixed stand of cereal cultivars. I Models. **Annals of Applied Biology**, Wageningen, v.98, p. 198, 1981a.

JEGER, M. J.; JONES, D. G.; GRIFFITHS, E. Disease progress of non-specialized fungal pathogens in intraspecific mixed stand of cereal cultivars. II Field Experiments. **Annals of Applied Biology**, Wageningen, v.98, n. 1, p. 198, 1981b.

JUNG, M.; WELDEKIDAN, J.; SCHAFF, D.; PATERSON, A.; TINGEY, S.; HANWK, J. Generations-means analysis and quantitative trait locus mapping of anthracnose stalk rot genes in maize. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 89, n. 4, p. 413 – 418, 1994.

LANNOU, C.; De VALLAVIEILLE-POPE, C.; GOYEAU, H. Host mixture efficacy in disease control: Effects of lesion growth analysed through computer-simulated epidemics. **Plant Pathology**, Oxford, v. 43, n. 4, p. 651-662, 1994.

LEONARD, K. J. Factors affecting rates of stem rust increase in mixed plantings of susceptible and resistant oat varieties. **Phytopathology**, St. Paul, v.59, n. 12, p. 1845-1850, 1969.

LEONARD, K. J.; THOMPSON, D. L. Effects of temperature and host maturity on lesion development of *Colletotrichum graminicola* [stalk rot] on corn [fungus diseases]. **Phytopathology**, St. Paul, v.66, n. 5, p. 635-639, 1976.

LESLEY, S.; WHITTINGTON, W. J. The effect of variety mixtures of the development of swede powdery mildew. **Plant Pathology**. Oxford, v. 32, n. 1, p. 41-46, 1983.

LIM, S. M.; WHITE, D. G. Estimate of heterosis and combining ability for resistance of maize to *Colletotrichum graminicola*. **Phytopathology**, St. Paul, v.68, n. 9, p. 1336-1342, 1978.

LIMA, M. L. F.; MENEZES, M. Estudo comparativo de isolados de *Colletotrichum graminicola* através da análise eletroforética de padrões protéicos e isoenzimáticos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 1, p. 12-16, 2002.

LIPPS, P. E. Spread of corn anthracnose from surface residues in continuous corn and corn-soybean rotation plots. **Phytopathology**, St. Paul, v.78, n. 6, p. 756-761, 1988.

McMULLEN, M. D.; SIMCOX, K. D. Genomic organization of disease and insect resistance genes in maize. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, St. Paul, v. 8, n. 6, p. 811-815, 1995.

MUNDT, C. C. Use of multiline cultivars and mixture for disease management. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 40, p. 381-410, 2002.

MUNDT, C. C.; LEONARD, K. L. Effect of host genotype unit area on development of crown rust following focal and general inoculations of mixtures of immune and susceptible oat plants. **Phytopathology**. St. Paul, v.75, n. 10, p. 1141-1145, 1985.

MUNDT, C. C.; LEONARD, K. L. Effect of host genotype unit area on development of local epidemics of bean rust and common maize rust in mixture of resistant and susceptible plants. **Phytopathology**. St. Paul, v.76, n. 9, p. 895-900, 1986.

NAKAMURA, K. **Especialização fisiológica em *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wils. (Sensu ARX 1957): agente causal da antracnose do sorgo (*Sorghum***

ssp). 1982. 147 f. Tese (Livre Docência) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária de Jaboticabal, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1982.

NAYLOR, V. D.; LEONARD, K. J. Survival of *Colletotrichum graminicola* in infected corn stalks in North Carolina. **Plant Disease Reporter**, St. Paul, v. 61, n. 4, p. 382-383, 1977.

NICHOLSON, R. L.; MORAES, W. B. C. Survival of *Colletotrichum graminicola*: importance of the spore matrix. **Phytopathology**, St. Paul, v. 70, n. 3, p. 255-261, 1980.

NICHOLSON, R. L.; WARREN, H. L. Criteria for evaluation of resistance to maize anthracnose. **Phytopathology**, St. Paul, v. 66, n. 1, p. 86-90, 1976.

NICHOLSON, R. L.; WARREN, H. L. The issue of races of *Colletotrichum graminicola* pathogenic to corn. **Plant Disease**, St. Paul, v. 65, n. 2, p. 143-145, 1981.

NTAHIMPERA, N.; DILLARD, H. R.; COBB, A. C.; SEEM, R. C. Anthracnose development in mixture of resistance and susceptible dry bean cultivars. **Phytopathology**, St. Paul, v. 86, n. 6, p. 68-673, 1996.

PANDE, S.; MUGHOGHO, L. K.; BADHIOPADHYAY, R.; KARUNAKAR, R.I. Variation in pathogenicity and cultural characteristics of sorghum isolates of *Colletotrichum graminicola* in India. **Plant Disease**. St. Paul, v. 75, n. 8, p. 778-783, 1991.

PARLEVLIET, J. E. The multiline approach in cereals to results: aspects, problems and possibilities. **Indian Journal of Genetics & Plant Breeding**, New Delhi v. 39, n. 1, p. 22-29, 1979.

PEREIRA, J. R. **Métodos de inoculação em milho com *Colletotrichum graminicola* f.sp *zeae* e herança da resistência.** 1978. 32 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1978.

PONTES, M. F. C. **Características fisiológicas e morfológicas de *Colletotrichum graminicola* (Ces) Wils. e avaliação de fontes de resistência em milho (*zea mays* L.).** 1987. 82 f. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 1987.

PYNDJI, M. M.; TRUTMANN, P. Managing angular leaf spot on common bean in Africa by supplementing farmer mixtures with resistance varieties. **Plant Disease** St. Paul, v. 76, n. 11, p. 1144-1147, 1992.

REZENDE, V. F. **Análise genética da resistência a antracnose foliar em milho** 2004. 103 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2004.

SHANER, G. A.; FINNEY, R. E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. **Phytopathology**, St. Paul, v.67, n. 8, p. 1051-1056. 1977.

SHARMA, H. L. A technique for identifying and rating resistance to foliar diseases of sorghum under field conditions. **Proceedings of the Indian Academy Science**, Bangalore, v. 42, p. 278-283, 1983.

SILVA, H. P. Incidência de doenças fúngicas na “safrinha” In: SEMINÁRIO SOBRE A CULTURA DO MILHO “SAFRINHA”, 4., 1997. Campinas. **Anais...** Campinas: IAC/CDV, 1997, p.81-86.

SILVA, H. P.; PEREIRA, O. A. P.; MIRANDA FILHO, J. B.; BALMER, E. Análise genética da resistência da nervura central da folha do milho ao *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wils. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 12, n. 1-2, p. 80-91, 1986.

SILVEIRA, A. P.; FIGUEREIDO, M. F.; CRUZ, B. P. Ocorrência de antracnose do milho no Estado de São Paulo. **O Biológico**, São Paulo, v.31, n. 9, p. 192-194, 1965.

SKOROPAD, W. P. Effect of temperature on the ability of *Colletotrichum graminicola* to form appressoria and penetrate barley leave. **Canadian Journal of Plant Science**, Ottawa, v.47, p. 431-434, 1967.

TOPSOBA, H.; WILSON, J. P. Increasing complexity of resistance in host populations through intermating to manage rust of pearl millet. **Phytopathology**, St. Paul, v. 89, n. 6, p. 450-455, 1999.

TORRES, J. C.; VENTURA, J. A. Um programa para calcular a área e o volume abaixo da curva de progresso da doença. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 16, n. 1, p. 52, 1991.

VAILLANCOURT, L. J.; HANAU, R. N. Genetic and morphological comparisons of *Glomerella* (*Colletotrichum*) isolates from maize and from sorghum. **Experimental Mycology**, Duluth, v. 16, n. 3, p. 219 – 229, 1992.

VANDERPLANK, J. E. **Plant disease: epidemic and control**. New York; Academic Press, 1963, 349 p.

WARREN, H. L. Survival of *Colletotrichum graminicola* in corn kernels. **Phytopathology**, St. Paul, v. 67, n. 2, p. 160-162, 1977.

WARREN, H. L.; NICHOLSON, R. L.; ULLSTRUP, A. J.; SHERVELLE, E. J. Observations of *Colletotrichum graminicola* to foliar and kernels infection. **Plant Disease Reporter**, St. Paul, v. 57, n. 2, p. 143-144, 1973.

WHEELER, H.; POLITIS, D. J.; PONELEIT, C. G. Pathogenicity, host range and distribution of *Colletotrichum graminicola* on corn. **Phytopathology**, St. Paul, v. 64, n. 3, p. 293-296, 1974.

WHITE, D. G.; YANNEY, J.; ANDERSON, B. Variation in pathogenicity, virulence and aggressiveness of *Colletotrichum graminicola* on corn. **Phytopathology**, St. Paul, v. 77, n. 7, p. 999-1001, 1987.

WILSON, J. P.; HANNA, W. W.; GATES, R. N. Stability of forage yield and quality in pearl millet hybrids heterogeneous for rust resistance. **Euphytica**, Dordrecht, v. 72, n. 3, p. 163-170, 1994.

WOLFE, M. S. The current status and prospects of multiline and variety mixture for disease resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 23, p. 251-273, 1985.

APÊNDICE

Apêndice A - Resposta de 15 genótipos de milho a nove isolados de *Colletotrichum graminicola*, em casa de vegetação. Escala de notas proposta por FERREIRA & CASELA, 1986 (notas de 1,0 a 5,0).

Genótipos	Isolados/reação								
	I1	I2	I3	I4	I6	I7	I8	I9	I10
BRS 1001	4,0	3,0	3,5	3,5	4,0	3,5	4,0	4,0	3,5
	3,5	4,0	3,5	3,5	3,5	4,5	4,0	3,5	4,0
	3,5	4,0	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	4,0	3,5
Média	3,67	3,67	3,50	3,50	3,67	3,83	3,83	3,83	3,67
BRS 1010	3,5	3,5	4,0	3,5	3,5	3,5	4,5	4,5	4,0
	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	3,5	3,5	3,5
	4,0	3,0	3,5	4,0	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5
Média	3,83	3,50	3,83	3,83	3,67	3,67	3,83	3,83	3,67
BRS 1030	4,0	3,0	4,0	4,0	3,5	4,5	3,5	3,5	4,0
	4,0	3,5	4,0	3,5	4,0	3,5	3,5	3,5	3,5
	4,5	3,5	3,5	3,5	3,5	4,0	4,0	3,5	4,0
Média	4,17	3,33	3,83	3,67	3,67	4,00	3,67	3,50	3,83
BRS 3003	2,0	2,0	2,5	2,0	2,0	2,5	2,0	1,5	1,5
	2,0	1,5	1,5	2,5	2,5	2,0	2,0	2,0	3,0
	1,5	2,5	2,0	1,5	2,5	2,0	2,0	1,5	2,5
Média	1,83	2,00	2,00	2,00	2,33	2,17	2,0	1,67	2,33
BRS 2020	3,5	2,5	4,0	3,0	2,0	3,0	2,5	3,0	2,5
	3,0	2,5	3,5	2,0	1,5	3,5	3,0	2,5	2,5
	3,5	3,0	4,5	1,5	2,5	3,5	2,0	2,0	1,5
Média	3,33	2,67	4,00	2,17	2,00	3,33	2,50	2,50	2,17
CMS 101142	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	4,0	3,5	4,0	3,5
	3,5	4,0	1,5	4,0	3,5	4,0	2,0	4,0	3,5
	3,5	4,0	2,0	3,5	3,5	3,5	3,5	4,0	4,0
Média	3,5	3,83	2,33	3,67	3,5	3,83	3,00	4,0	3,67
BRS 2020 F	3,5	2,0	4,0	3,5	3,5	4,0	3,5	4,5	3,5
	4,0	3,5	3,5	4,0	3,5	4,0	2,0	4,0	3,5
	3,5	4,0	3,5	3,5	3,5	4,0	3,5	4,0	3,5
Média	3,67	3,17	3,67	3,67	3,5	4,0	3,00	4,17	3,5
BRS 2020 M	3,5	2,5	3,5	3,5	3,0	3,5	2,5	3,5	3,5
	3,5	3,5	2,0	3,5	3,5	2,0	2,0	5,0	4,0
	3,5	2,0	4,0	2,5	2,0	3,5	3,5	3,5	3,5
Média	3,5	2,67	3,17	3,17	2,83	3,00	2,67	4,00	3,67
BRS 2223	3,5	2,0	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	4,0
	4,0	4,5	3,5	4,0	3,5	3,5	3,5	3,5	2,0
	4,0	3,5	3,5	4,5	4,0	3,5	4,0	4,0	3,5
Média	3,83	3,33	3,5	4,00	3,67	3,50	3,67	3,67	3,17
Linhagem A	4,0	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	4,0	4,0	4,5
	4,0	4,0	3,5	3,5	4,0	3,5	3,5	4,5	4,0
	4,5	3,5	4,0	4,0	3,5	3,5	3,5	3,5	4,0
Média	4,17	3,67	3,67	3,67	3,67	3,50	3,67	4,00	4,17
Linhagem B	3,5	4,0	3,5	3,5	4,0	4,0	4,0	3,5	4,0
	3,5	4,0	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5
	4,0	3,5	4,0	3,5	3,5	3,5	4,0	4,0	4,0
Média	3,67	3,83	3,67	3,50	3,67	3,67	3,83	3,67	3,83
Linhagem C	3,0	3,5	2,5	4,0	3,0	2,0	3,0	4,0	3,5
	4,0	3,0	2,5	3,5	4,0	3,0	3,5	4,0	3,0
	3,5	2,5	2,5	3,5	3,5	3,0	2,5	3,5	3,5
Média	3,50	3,00	2,50	3,67	3,50	2,67	3,00	3,83	3,33
Linhagem D	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5
	3,5	4,0	3,5	4,0	3,5	3,5	4,0	3,5	3,5
	4,0	4,0	3,5	3,5	4,0	3,5	3,5	3,5	4,0
Média	3,67	3,83	3,5	3,67	3,67	3,50	3,67	3,50	3,67
Linhagem E	4,0	3,0	3,0	3,5	3,5	2,0	2,5	3,5	4,0
	1,5	3,5	4,0	3,5	3,5	3,5	2,5	4,0	4,0
	2,0	3,5	3,5	4,0	2,5	4,0	2,0	2,0	3,5
Média	2,50	3,33	3,50	3,67	3,17	3,17	2,23	3,17	3,83
Linhagem F	4,0	3,5	3,5	4,0	4,0	3,5	3,5	4,0	3,5
	3,5	3,5	3,5	4,0	4,0	4,0	4,0	3,5	3,5
	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5
Média	3,67	3,50	3,50	3,83	3,83	3,67	3,67	3,67	3,50