

Notas Científicas

Relação entre número de estegmata na epiderme foliar e intensidade da antracnose em *Stylosanthes* spp.

Vanessa de Fátima Jerba⁽¹⁾, Celso Dornelas Fernandes⁽¹⁾ e Arnildo Pott⁽¹⁾

⁽¹⁾Embrapa Gado de Corte, Caixa Postal 154, CEP 79002-970 Campo Grande, MS. E-mail: vjerba@cnpqc.embrapa.br, celsof@cnpqc.embrapa.br, apott@cnpqc.embrapa.br

Resumo – O objetivo deste trabalho foi quantificar o número de estegmata em cinco espécies de *Stylosanthes* e relacioná-lo à severidade da antracnose. Quantificaram-se os estegmata em secções foliares paradermicas, coradas com safranina a 1%. A antracnose foi avaliada no 12º dia, depois da inoculação de *Colletotrichum gloeosporioides*. As espécies apresentaram número semelhante de estegmata na epiderme foliar, à exceção de *S. guianensis*, que apresentou menor quantidade. Maior severidade da antracnose foi observada em *S. macrocephala* e, em seguida, em *S. capitata*. Não foi constatada correlação significativa entre número de estegmata na epiderme foliar e a severidade da doença.

Termos para indexação: botânica estrutural, fitopatologia, forrageira, resistência, sílica.

Relationship between number of stigmata on leaf epidermis and anthracnose intensity in *Stylosanthes* spp.

Abstract – The objective of this work was to quantify the number of stigmata in leaf epidermis of five *Stylosanthes* species, and correlate it to anthracnose severity. Counting of stigmata number per cell unit was done on paradermal sections stained with 1% saffranine. Anthracnose severity was appraised 12 days after inoculation using isolate of *Colletotrichum gloeosporioides*. The number of stigmata was similar among the species, except for *S. guianensis*, which presented lower quantity. Anthracnose severity was higher on *S. macrocephala* followed by *S. capitata*. No significant correlation was observed between anthracnose severity and number of stigmata in leaf epidermal cells of the studied species.

Index terms: structural botany, phytopathology, forage, resistance, silica.

O gênero *Stylosanthes*, nativo das Américas do Sul e Central, é o mais importante entre as leguminosas forrageiras das regiões tropical e subtropical do mundo. É resistente a solos de baixa fertilidade, ao pastejo pesado e ao estresse hídrico (Gardener, 1984), além de apresentar alto teor protéico, fácil propagação e manutenção, bem como boa produção de forragem (Baldión et al., 1975). Apesar da importância do gênero *Stylosanthes*, seu cultivo tem sido limitado pela ocorrência da antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. Em germoplasma suscetível, essa doença provoca intensa desfolha e morte de plantas, reduzindo a qualidade e a produção total (Fernandes et al., 1992).

As células epidérmicas de algumas espécies de estilóides apresentam polímeros de sílica no protoplasto

(Metcalf & Chalk, 1950), denominados por Assumpção (1978) de corpúsculos de sílica. Assumpção (1978) refere-se algumas vezes aos polímeros de sílica como bastonetes silicosos e outras vezes como corpúsculos silicosos. No presente trabalho, optou-se por adotar o termo proposto por Mauseth (1988) – estegmata –, em razão do melhor detalhamento dos critérios usados no emprego da terminologia. A sílica é considerada um dos principais componentes de barreiras estruturais por sua resistência física (Epstein, 1999).

O objetivo deste trabalho foi quantificar o número de estegmata na epiderme foliar de cinco espécies de *Stylosanthes* e relacioná-lo à severidade da antracnose.

As plantas de *Stylosanthes* foram coletadas no campo de produção de leguminosas forrageiras, da Embrapa Gado de Corte, em Campo Grande, MS.

Foram coletados os folíolos centrais da terceira folha apical de *Stylosanthes capitata* (GC798), *S. guianensis* (GC1546), *S. macrocephala* (GC170), *S. scabra* (GC1500) e *S. seabrana* (GC1588), e foram amostrados os fragmentos dos terços médios desses folíolos.

Em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, efetuou-se a quantificação de estegmata na epiderme foliar, mediante secções paradérmicas das faces abaxial e adaxial do folíolo amostrado. As secções foram coradas com safranina aquosa a 1% e montadas em glicerina a 50% (Kraus & Arduim, 1997). Em cada repetição, as contagens do número de estegmata por unidade celular foram realizadas sob microscópio óptico, em dez campos de cada corte paradérmico. Os dados foram analisados estatisticamente e comparados pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O isolado monospórico GC29 de *Colletotrichum gloeosporioides* foi cultivado por 12 dias, em meio de cultura de aveia-ágar, mantido em estufa BOD, a 27°C e fotoperíodo de 12 horas. Esse isolado foi obtido de lesões foliares, provenientes de *S. capitata*, e demonstrou-se altamente agressivo nas cinco espécies utilizadas neste estudo, em experimentos anteriores. Em delineamento inteiramente casualizado, uma suspensão de 10^6 conídios mL⁻¹ do fungo foi inoculada em sete plantas de cada espécie de *Stylosanthes*, com seis semanas. As plantas permaneceram 48 horas em câmara úmida, tendo sido, depois, transferidas para a casa de vegetação. A avaliação dos sintomas da doença foi realizada no 12º dia depois da inoculação, com uma escala de notas de 0–9, em que 0 é planta sadia e 9 é planta morta (Chakraborty, 1990).

A severidade da antracnose foi superior em *S. macrocephala*, seguida por *S. capitata*, ao passo que *S. guianensis*, *S. scabra* e *S. seabrana* não diferiram entre si, quanto à resistência à doença (Tabela 1).

Charchar et al. (2002) relataram que os acessos de *S. macrocephala*, *S. capitata*, *S. seabrana*, além da cultivar Estilosantes Campo Grande, apresentam ótimo grau de resistência à antracnose. No entanto, de acordo com esses mesmos autores, acessos e cultivares de *S. capitata*, *S. macrocephala* e *S. seabrana* já haviam sido classificados como suscetíveis em outros ensaios realizados. Essa variação das reações de resistência ocorre devido ao sistema complexo e diverso, existente entre a planta hospedeira e o patógeno, como é o caso de *Stylosanthes* e *Colletotrichum* (Kelemu et al., 1996).

As reações patógeno-hospedeiro variam muito e são dependentes de combinações de muitas variáveis, dentre as quais estão: variabilidade genética do patógeno, resistência do hospedeiro e condições ambientais. Pode-se citar, como exemplo de complexidade das reações patógeno-hospedeiro, o caso da cultivar Endeavour de *S. guianensis*, que é suscetível a isolados australianos e resistente aos isolados sul-americanos (Kelemu et al., 1996).

O isolado de *C. gloeosporioides*, GC29, utilizado neste trabalho, embora seja originário de *S. capitata*, foi altamente agressivo a acessos de todas as espécies de *Stylosanthes* estudadas, fato que pode explicar os resultados de severidade de antracnose obtidos. Verificou-se que, em todas as espécies de *Stylosanthes* estudadas, houve a formação de estegmata (Figura 1). No entanto, quanto ao número dessas estruturas, observou-se menor concentração em *S. guianensis* (Tabela 1). As demais espécies não diferiram entre si.

A análise de correlação entre a severidade da antracnose e o número de estegmata por unidade celular não foi significativa a 5% de probabilidade, nas condições experimentais, comprovando que a quantidade de estegmata nas células não influencia a resistência do hospedeiro à antracnose. Tal fato não era esperado, uma vez que o silício, além de contribuir com a estrutura física da planta, também influencia na interação patógeno-hospedeiro, resultando em ativação rápida e extensiva dos mecanismos de defesa pré-formados e pós-formados (Epstein, 1999). Tanto a sílica quanto o ácido silícico atuam, primariamente, como barreiras físicas às estruturas fúngicas, seja na forma de cristais ou em complexo com a parede celular (Pozza et al., 2004).

Apesar do número de estegmata na epiderme foliar do hospedeiro sugerir a quantidade de sílica e de silício presente na planta, essas estruturas não consistiram em

Tabela 1. Valores médios referentes à severidade da antracnose e ao número de estegmata por unidade celular em germoplasma de *Stylosanthes*⁽¹⁾.

Germoplasma	Severidade da antracnose ⁽²⁾	Número de estegmata por unidade celular
<i>S. capitata</i>	1,16b	7,54a
<i>S. guianensis</i> cv. Cook	0,10c	6,12b
<i>S. macrocephala</i>	2,57a	7,64a
<i>S. scabra</i> cv. Seca	0,46c	7,72a
<i>S. seabrana</i> cv. Primar	0,46c	7,84a

⁽¹⁾Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ⁽²⁾Dados transformados em (severidade + 0,01)^{0.5}.

mecanismo de resistência à antracnose, que deve estar relacionado a outros fatores, como a síntese de quitinase e β -glucanase (Brown & Davis, 1992), a síntese de

peroxidases, a deposição de calose e agregação citoplasmática (Sharp et al., 1990), assim como a composição da cutícula (Vinijsanum et al., 1987).

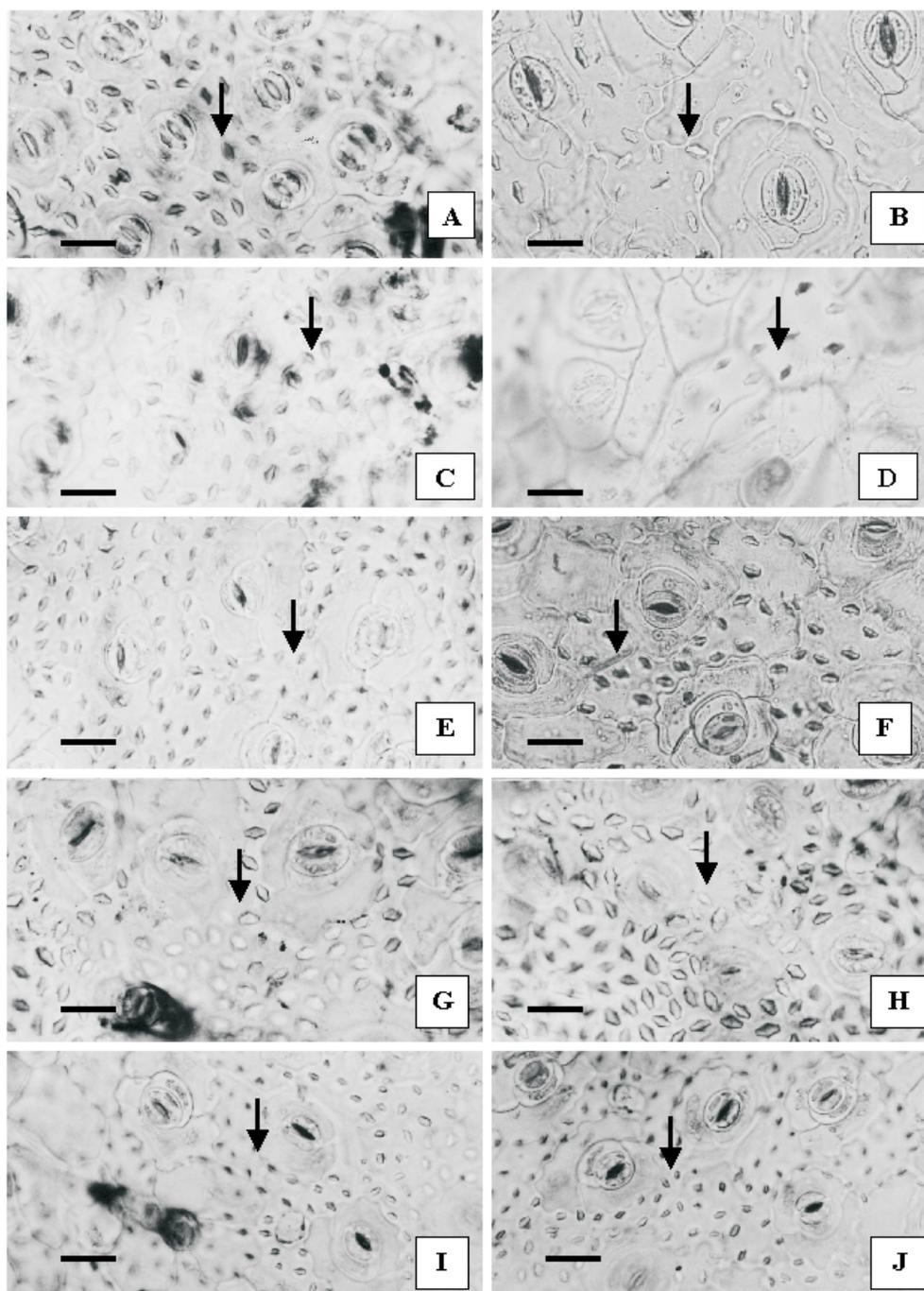


Figura 1. Estegmata (setas) nas faces adaxial (coluna da direita) e abaxial (coluna da esquerda) da epiderme foliar de *S. capitata* (A e B), *S. guianensis* (C e D), *S. macrocephala* (E e F), *S. scabra* (G e H) e *S. seabrana* (I e J). Barra: 23 μ m.

Agradecimentos

Ao convênio Fundect-MS/CNPq, pelo suporte financeiro.

Referências

- ASSUMPÇÃO, W.R.C. O gênero *Stylosanthes* em Minas Gerais (anatomia). **Oréades**, v.5, p.97-115, 1978.
- BALDIÓN, R.; LOZANO, J.C.; GROF, B. Evaluación de la resistencia de *Stylosanthes* spp. a la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*). **Fitopatología**, v.10, p.104-108, 1975.
- BROWN, A.E.; DAVIS, R.D. Chitinase activity in *Stylosanthes guianensis* systemically protected against *Colletotrichum gloeosporioides*. **Journal of Phytopathology**, v.136, p.242-256, 1992.
- CHAKRABORTY, S. Expression of quantitative resistance to *Colletotrichum gloeosporioides* in *Stylosanthes scabra* at different inoculum concentrations and day-night temperatures. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.41, p.89-100, 1990.
- CHARCHAR, M.J. d'Á.; ANJOS, J.R.N.; GOMES, A.C.; TOMAZ, L.V.; AKIMOTO, A.K.; KARIA, C.T. **Avaliação de acessos de *Stylosanthes* spp. em relação à antracnose, em condições de campo, no Distrito Federal, Brasil**. Brasília: Embrapa Cerrados, 2002. 14p. (Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 77).
- EPSTEIN, E. Silicon. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.50, p.641-664, 1999.
- FERNANDES, A.T.F.; FERNANDES, C.D.; GROF, B. Reação de *Stylosanthes* a diferentes isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. & Sacc. **Pasturas Tropicales**, v.14, p.22-27, 1992.
- GARDENER, C.J. The dynamics of *Stylosanthes* pasture. In: STACE, H.M.; EDYE, L.A. (Ed.). **The biology and agronomy of *Stylosanthes***. Centercourt: Academic, 1984. p.333-357.
- KELEMU, S.; BADEL, J.L.; MORENO, C.X. Virulence spectrum of South American isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* on selected *Stylosanthes guianensis* genotypes. **Plant Disease**, v.80, p.1355-1358, 1996.
- KRAUS, J.E.; ARDUIM, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica: Ed. da Universidade Rural, 1997. 198p.
- MAUSETH, J.D. **Plant anatomy**. Menlo Park: Benjamin/Cummings, 1988. 560p.
- METCALFE, C.R.; CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons**. Oxford: Clarendon, 1950. 1500p.
- POZZA, A.A.A.; POZZA, E.A.; BOTELHO, D.M. dos S. Patologia de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v.12, p.373-403, 2004.
- SHARP, D.; BRAITHWAITE, K.S.; IRWIN, J.A.G.; MANNERS, J.M. Biochemical and cytochemical responses of *Stylosanthes guianensis* to infection by *Colletotrichum gloeosporioides*: association of callose deposition with resistance. **Canadian Journal of Botany**, v.68, p.505-511, 1990.
- VINIJSANUM, T.; IRWIN, J.A.G.; CAMERON, D.F. Host range of three strains of *Colletotrichum gloeosporioides* from tropical pasture legumes, and comparative histological studies of interactions between type B disease-producing strains and *Stylosanthes scabra* (nonhost) and *S. guianensis* (host). **Australian Journal of Botany**, v.35, p.665-677, 1987.

Recebido em 23 de dezembro de 2004 e aprovado em 6 de maio de 2005