ISSN 1679-1150

CIRCULAR TÉCNICA

270

Sete Lagoas, MG
Novembro, 2020

Reação de híbridos de milho à podridão-de-colmo causada por *Macrophomina phaseolina*

Rodrigo Véras da Costa
Luciano Viana Cota
Dagma Dionísia da Silva
Rodrigo Estevam Munhoz de Almeida
Leonardo José Motta Campos
Daniel Pettersen Custodio
Fernanda Pinheiro Bernardes
Doglas Tubiana
Arlam Fernandes da Silva
Lila Soares Lima

OBJETIVOS DE DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL

2 FOME ZERO E AGRICULTURA SUSTENTÁVEL

Embrapa

Reação de híbridos de milho à podridão-de-colmo causada por *Macrophomina phaseolina*[1]

1. Introdução

O fungo *Macrophomina phaseolina* é capaz de infectar centenas de espécies vegetais agronomicamente importantes, como a soja, o milho, o algodão, o sorgo, o girassol, etc. (Almeida et al., 2014), nos quais causa uma doença conhecida como podridão-cinzenta, podridão-de-carvão ou podridão-de-macrophomina em raízes, colmos e caules. No interior dos tecidos infectados é observada a presença de inúmeras estruturas de coloração escura, denominadas microescleródios (Costa et al., 2019).

No milho, este fungo tem sido um grande problema enfrentado por produtores em todo o globo. Os sintomas, normalmente, aparecem ao final do ciclo. O fungo infecta os tecidos da casca e da medula, os quais adquirem uma coloração acinzentada em razão dos inúmeros microescleródios que se desenvolvem nestes tecidos (Figura 1) (Costa et al., 2019).

.

[1] Rodrigo Véras da Costa, Eng.-Agrôn., DSc. em Fitopatologia, Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo; Luciano Viana Cota, Eng.-Agrôn., DSc. em Fitopatologia, Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo; Dagma Dionísia da Silva, Eng.-Agrôn., DSc. em Fitopatologia, Pesquisadora da Embrapa Milho e Sorgo; Rodrigo Estevam Munhoz de Almeida, Eng.-Agrôn., DSc. Em Fitotecnia, Pesquisador da Embrapa Pesca e Aquicultura; Leonardo José Motta Campos, Eng.Agrôn., DSc. em Biologia/ Fisiologia Vegetal, Pesquisador da Embrapa Soja; Daniel Pettersen Custodio, Eng. Agrôn., Analista de Pesquisa da Embrapa Pesca e Aquicultura, Fernanda Pinheiro Bernardes, Estudante, Faculdade Católica do Tocantins, Estagiária da Embrapa Milho e Sorgo; Doglas Tubiana, Estudante Faculdade Católica do Tocantins, Estagiário da Embrapa Pesca e Aquicultura; Arlam Fernandes da Silva, Faculdade Católica do Tocantins,Estagiário da Embrapa Pesca e Aquicultura; Lila Soares Lima, Faculdade Católica do Tocantins, Estagiária da Embrapa Pesca e Aquicultura..

Fotos: Rodrigo Veras da Costa.

Figura 1. Sintomas da podridão de macrophomina nos tecidos vasculares do colmo do milho. Detalhe da presença de microescleródios nestes tecidos.

Os microescleródios são estruturas de resistência formadas pela compactação de hifas, e permitem ao fungo a capacidade de sobreviver no solo e em restos culturais por longos períodos de tempo, e constituem a principal fonte de inóculo primário do fungo (Ishikawa et al., 2018). Por ser um fungo polífago, o inóculo produzido em uma cultura durante uma estação de cultivo pode infectar a cultura sucessora, como ocorre na sucessão soja-milho safrinha (Costa et. al., 2019).

O desenvolvimento da doença é fortemente favorecido por condições de elevada temperatura e baixa umidade no solo, ou seja, períodos quentes e secos, os quais são muito comuns nas áreas de produção de milho safrinha nos cerrados brasileiros de baixa altitude, como em grande parte da região do Matopiba (Almeida et al., 2014).

O manejo da podridão-de-macrophomina é dificultado pela ampla gama de hospedeiros que o fungo apresenta, tornando impraticável o uso da rotação de culturas, e também pela baixa eficiência das aplicações foliares de fungicidas para o seu controle, dada a localização do fungo no solo ou no interior dos tecidos das raízes e colmo (Nascimento et al., 2016).

O uso da resistência genética é considerado a principal estratégia de manejo dessa doença na cultura do milho. Entretanto, são escassas as informações sobre o nível de resistência dos híbridos comerciais à *M. phaseolina*. A ausência desta informação impede que os produtores possam escolher e plantar híbridos mais resistentes em áreas e ambientes nos quais a doença ocorre de forma endêmica e em elevada incidência. Considerando a ausência de informações sobre a resistência de híbridos de milho à podridão–de-macrophomina, este trabalho teve como objetivo caracterizar o nível de resistência de híbridos comerciais de milho a essa doença em condição de campo com inoculação artificial do fungo.

O presente trabalho contribui para o atendimento do Objetivo do Desenvolvimento Sustentável 2: “Acabar com a fome, alcançar a segurança alimentar e melhoria da nutrição e promover a agricultura sustentável”, meta 2.4 “Até 2030, garantir sistemas sustentáveis de produção de alimentos e implementar práticas agrícolas resilientes, que aumentem a produtividade e a produção, que ajudem a manter os ecossistemas, que fortaleçam a capacidade de adaptação às mudanças climáticas, às condições meteorológicas extremas, secas, inundações e outros desastres, e que melhorem progressivamente a qualidade da terra e do solo”. A principal razão para o atendimento desse objetivo é que a inexistência de outras alternativas viáveis e eficientes coloca a resistência genética como uma medida fundamental para o manejo dessa importante doença que ameaça a produção de milho no Cerrado e, também, de outras importantes culturas de importância agronômica, como soja, sorgo, algodão, arroz, entre outras. Além disso, contribui para a redução do uso de produtos químicos utilizados em demasia e com baixa eficiência nas áreas onde essa enfermidade ocorre. Portanto, a identificação de fontes de resistência à podridão-de-macrophomina contribui para a sustentabilidade dos sistemas de produção de grãos e fibras, pois ajuda na redução da severidade da doença e na diminuição do potencial de inóculo do patógeno as áreas de cultivo. A segunda razão diz respeito aos fatores climáticos que fa-

vorecem essa doença. Condições quentes e secas, comumente encontradas nas regiões do Cerrado, são altamente favoráveis para o desenvolvimento da podridão–de-macrophomina nas diversas culturas. Observando o cenário de mudanças climáticas e as tendências de aquecimento e redução de chuva nas áreas de produção do Cerrado, é razoável esperar um forte aumento da importância dessa doença. Assim, identificar fontes de resistência e desenvolver, ou indicar genótipos, que resistam a essa enfermidade contribuirá para a sustentabilidade da produção de grãos nestas regiões.

O experimento foi conduzido na área experimental da Fazenda Invernadinha, localizada no município de Paraíso do Tocantins, estado do Tocantins. A semeadura, no sistema de plantio direto, foi realizada no dia 25/02/2020, utilizando-se uma semeadora de parcela experimental a vácuo. Foi utilizado o delineamento experimental de blocos ao acaso, em arranjo fatorial duplo (20 x 2) e três repetições.

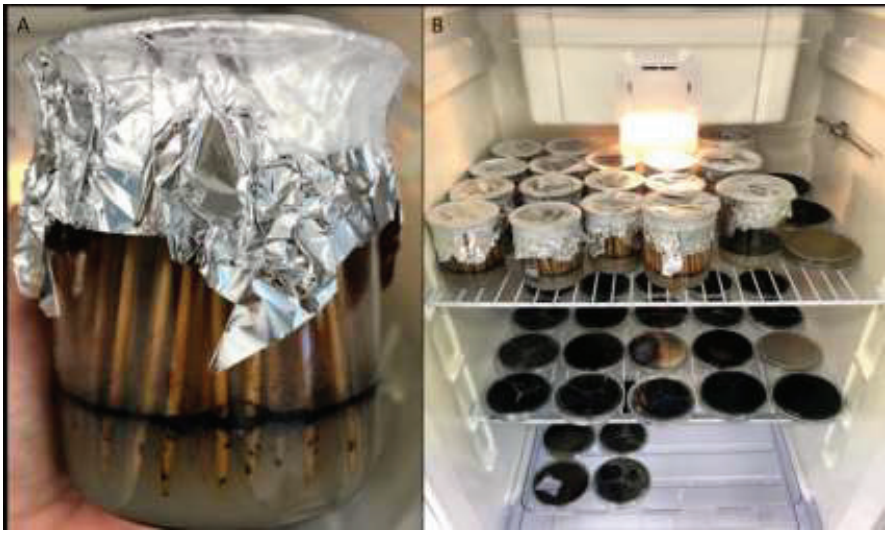
Os tratamentos foram compostos de 20 híbridos comerciais de milho (Tabela 1), com e sem inoculação com o fungo *Macrophomina phaseolina*. As parcelas foram compostas por quatro linhas de cinco metros de comprimento, com espaçamento de 0,5 metros entre linhas e densidade média de 65.000 plantas/ha. A adubação de plantio consistiu da aplicação de 50 kg/ha de N; 50 kg /ha de P_2O_5 e 50 kg /ha de K_2O. A adubação de cobertura foi realizada na fase de quatro folhas do milho, através da aplicação de mais 70 kg/ha de N na forma de ureia. O controle de pragas e doenças, a adubação e os demais tratos culturais foram realizados conforme recomendação para a cultura.

Tabela 1. Notas de severidade da podridão de macrophomina em colmos de plantas de milho inoculadas com *Macrophominha phaseolina*, testemunhas (palito estéril) e severidade final (nota inoculada - nota da testemunha).

Híbridos	Inoculadas	Não Inoculadas	Severidade Final
20A44	2,3 A a	1,5 A a	0,8 A
STATUS	4,0 B a	1,1 A b	2,9 B
B2612	4,4 B a	1,0 A b	3,4 B
B2810	5,6 C a	1,2 A b	4,4 C
FS533	5,8 C a	1,3 A b	4,5 C
CBN16B092	5,7 C a	1,1 A b	4,6 C
16C103	6,2 C a	1,3 A b	4,9 D
FS564	6,5 D a	1,6 A b	4,9 D
P3707	6,8 D a	1,5 A b	5,3 D
P3898	6,7 D a	1,3 A b	5,4 D
FS512	6,9 D a	1,5 A b	5,4 D
20A07	6,6 D a	1,1 A b	5,5 D
MG580	6,9 D a	1,4 A b	5,5 D
SYN522	7,1 D a	1,6 A b	5,5 D
20A20	6,8 D a	1,0 A b	5,8 D
B2856	7,1 D a	1,3 A b	5,8 D
AG8700	7,2 D a	1,3 A b	5,9 D
30F53	7,5 D a	1,6 A b	5,9 D
CRV2738	7,3 D a	1,2 A b	6,1 D
FS715	7,6 D a	1,2 A b	6,4 D

Letas maiúsculas iguais na coluna e minúsculas nas linhas não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste Scott-Knott.

O isolado de *M. phaseolina* utilizado no trabalho foi obtido de amostras de colmo de plantas de milho infectadas. Para o isolamento do fungo, fragmentos dos tecidos vasculares do colmo foram retirados e colocados em placas de petri contendo meio BDA (batata, dextrose e ágar), e mantidas em câmara de crescimento, do tipo BOD, ajustada para temperatura de 26 ºC e no escuro (Figura 2).



Fotos: Fernanda Pinheiro Bernardes

Figura 2. Produção de inóculo da *Macrophomina phaseolina* nos palitos para inoculação (A) e da produção de inóculo na câmara BOD (B).

Após o crescimento do fungo, culturas puras foram obtidas através da repicagem dele para placas de petri com meio BDA e mantidas sob as mesmas condições de temperatura e fotoperíodo.

Para inoculação foi utilizado o método do palito colonizado pelo fungo. Os palitos a serem utilizados nas inoculações foram previamente fervidos por duas vezes em água deionizada para a eliminação de quaisquer resíduos, sendo feita a troca de água nas duas fervuras. Os palitos foram secos em estufa a 60 ºC e, posteriormente, acondicionados em beckers para autoclavagem. Os palitos estéreis foram inseridos em beckers de 100 ml contendo meio de BDA. Em seguida foi realizada a repicagem do fungo *M. phaseolina* das placas de petri para os beckers contendo meio de aveia (60 g farinha de aveia,

15 g agar e 1.000 ml água) e os palitos estéreis. Os beckers foram fechados com papel alumínio e fita parafilm até o momento das inoculações (Figura 2).

As inoculações foram realizadas no dia 06/04/2020, na fase de pré-pendoamento do milho. Para a inoculação, após a desinfestação superficial, o segundo entrenó da base do colmo foi perfurado com o auxílio de um furador de diâmetro similar ao diâmetro dos palitos. Após a retirada do furador, os palitos colonizados pelo fungo, foram colocados no orifício produzido, sendo inserido, aproximadamente, 1/3 do seu comprimento. As testemunhas consistiram da inserção de palitos estéreis, ou seja, sem inóculo do fungo.

A avaliação da severidade de colonização dos tecidos vasculares do entrenó inoculado ocorreu aos 30 dias após as inoculações. Para tal, segmentos de colmos das plantas inoculadas e testemunhas foram colhidos e avaliados em condição de laboratório. Na coleta, todas as folhas das plantas foram removidas, e os segmentos de colmos compreendidos entre o primeiro e o segundo entrenós foram cortados e levados ao laboratório para as avaliações (Figura 3). Os segmentos de colmo foram seccionados longitudinalmente, e a extensão das lesões (severidade) foi avaliada utilizando-se a escala diagramática utilizada por Nicoli et al. (2015), desenvolvida para a antracnose–do-colmo. Esta escala foi utilizada por causa do padrão semelhante de desenvolvimento das podridões de antracnose e macrophomina no colmo através de inoculação artificial (Figura 4).

Fotos: Fernanda Pinheiro Bernardes

Figura 3. Sintomas em colmos de plantas de milho inoculadas com *Macrophomina phaseolina* (à esquerda) e testemunhas com palito estéril (à direita).

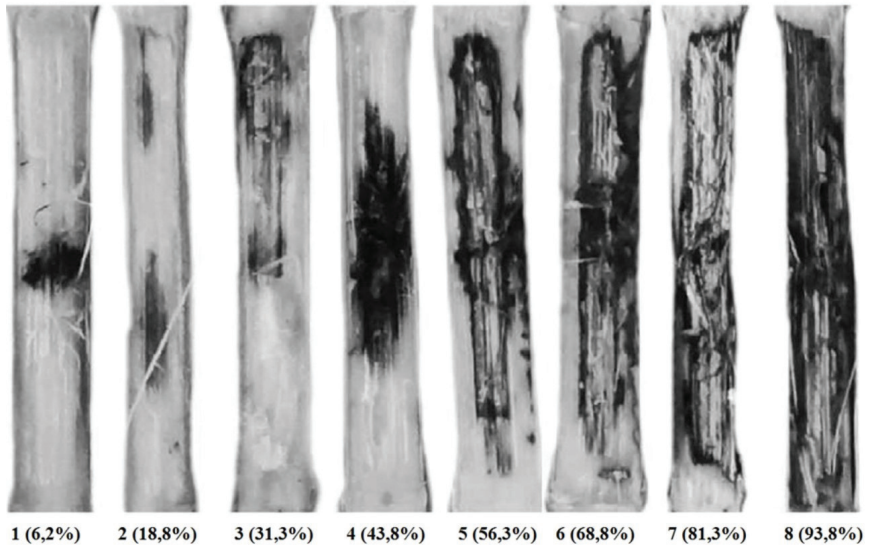


Figura 4. Escala diagramática utilizada para avaliação da severidade da podridão de macrophomina no colmo de plantas de milho (adaptada de Nicoli et al., 2015).

Os dados de notas de severidade foram submetidos à análise de variância, e as médias foram comparadas pelo teste Scott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o software Sisvar, versão 5.7.

Pela análise de variância foi observada interação significativa entre os fatores híbridos e inoculação. A interação significativa implica que os fatores isoladamente não são suficientes para explicar toda a variação observada nas médias dos tratamentos, e eles devem ser analisados de forma conjunta. Para a variável severidade final foi observado efeito significativo do tratamento híbridos para as médias das notas de severidade da doença.

O método de inoculação utilizado mostrou-se eficiente em promover o desenvolvimento do fungo nos tecidos do colmo das plantas e, também, em permitir a caracterização da resistência/suscetibilidade dos híbridos para a referida doença. Foi observado que a inserção de palitos estéreis (testemunha sem o fungo) no interior dos tecidos do colmo causa uma pequena reação de coloração escura nos tecidos vasculares em torno dos palitos (Figura 3). Entretanto, essa reação fica restrita a uma pequena porção de tecidos do col-

mo e não progride, ao contrário do que se observa com a inoculação dos palitos contaminados com o fungo. Embora não seja uma reação provocada pelo patógeno, foram atribuídas notas de severidade para estas reações, visando ajustar, por diferença, a severidade final da doença nas plantas inoculadas.

Para a severidade final, os híbridos foram classificados em quatro grupos de acordo com o nível de resistência ou suscetibilidade à *M. phaseolina* (Tabela 1). O híbrido 20A44 apresentou nota de severidade da podridão-de-macrophomina significativamente menor que os outros híbridos avaliados, seguido dos híbridos Status e B2612, que formaram o segundo grupo de maior resistência. Um grupo intermediário foi formado pelos híbridos B2810, CBN16B092 e FS533. Os demais formaram o grupo dos híbridos mais suscetíveis, não diferindo entre si.

Todos os tratamentos inoculados diferiram da testemunha (sem inoculação), com exceção do híbrido 20A44, cujas médias das plantas inoculadas e não inoculadas foram estatisticamente iguais, o que demonstra o maior nível de resistência desse material à podridão-de-macrophomina, em relação ao demais híbridos avaliados (Tabela 1).

Conclusão

O método de inoculação e avaliação de híbridos utilizado neste trabalho pode ser usado em programas de fenotipagem de cultivares de milho em campo, permitindo a caracterização destes híbridos de milho em relação à reação ao fungo *Macrophomina phaseolina*.

Foi detectada variabilidade na reação dos híbridos de milho avaliados à podridão-de-colmo causada pelo fungo *Macrophomina phaseolina*.

O híbrido 20A44 se destacou pelo maior nível de resistência, não diferindo da testemunha sem inoculação, seguido dos híbridos Status e B2612.

Referências

ALMEIDA, A. M. R.; SEIXAS, C. D. S.; FARIAS, J. R. B.; OLIVEIRA, M. C. N.; FRANCHINI, J. C.; DEBIASI, H.; COSTA, J. M.; GAUDÊNCIO, C. A. ***Macrophomina phaseolina* em soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2014. 55 p. (Embrapa Soja. Documentos, 346).

COSTA, R. V. da; SILVA, D. D. da; COTA, L. V.; CAMPOS, L. J. M.; ALMEIDA, R. E. M. de; TUBIANA, D.; EVANGELISTA, B. A.; RIBEIRO, I. L. ***Macrophomina phaseolina* em milho safrinha**: levantamento da incidência e perdas na produtividade no Estado do Tocantins. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2019. 19 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 202).

ISHIKAWA, M. S.; RIBEIRO, N. R.; OLIVEIRA, E. C.; ALMEIDA, A. A.; BALBI-PEÑA, M. I. Seleção de cultivares de soja para resistência à podridão negra da raiz (Macrophomina phaseolina). **Summa Phytopathologica**, v. 44, n. 1, p. 38-44, 2018.

NASCIMENTO, S. R. C.; SILVA, F. H. A.; CRUZ, B. L. S.; DANTAS, A. M. M.; AMBRÓSIO, M. M. Q.; SENHOR, R. F. Sobrevivência de estrutura de resistência de *Macrophomina phaseolina* e *Sclerotium rolfsii* em solo tratado biologicamente. Revista **Agro@mbiente On-line**, v. 10. n. 1, p. 50-56, 2016.

NICOLI, A.; COSTA, R. V. da; COTA, L. V.; SILVA, D. D. da; ZAMBOLIM, L.; LANZA, F. E.; GUIMARAES, D. P.; LANDAU, E. C. Validação de escala diagramática para quantificação da severidade da antracnose do colmo do milho. **Ciência Rural**, v. 45, n. 10, p. 1720-1726, out. 2015.

Esta publicação está disponível no endereço:
https://www.embrapa.br/milho-e-sorgo/publicações

Embrapa Milho e Sorgo
Rod. MG 424 Km 45
Caixa Postal 151
CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG
Fone: (31) 3027-1100
Fax: (31) 3027-1188
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

1ª edição
Publicação digital (2020)

Comitê Local de Publicações
da Unidade Responsável

Presidente
Maria Marta Pastina

Secretário-Executivo
Elena Charlotte Landau

Membros
Cláudia Teixeira Guimarães, Mônica Matoso Campanha, Roberto dos Santos Trindade e Maria Cristina Dias Paes

Revisão de texto
Antonio Claudio da Silva Barros

Normalização bibliográfica
Rosângela Lacerda de Castro (CRB 6/2749)

Tratamento das ilustrações
Mônica Aparecida de Castro

Projeto gráfico da coleção
Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica
Mônica Aparecida de Castro

Foto da capa
Rodrigo Veras da Costa