



AValiação de Híbridos Interpopulacionais e Populações de Milho Quanto à Resistência aos Enfezamentos

Daniel Sarto Rocha⁽¹⁾, André Luís Bombonato de Oliveira⁽¹⁾, Maria Elisa Ayres Guidetti Zagatto Paterniani⁽²⁾, Eduardo Sawazaki⁽²⁾, Paulo Boller Gallo⁽³⁾, Aildson Pereira Duarte⁽²⁾ e Haiko Enok Sawazaki⁽²⁾

1. Introdução

As doenças do milho transmitidas por insetos vetores, como os enfezamentos pálido (*Spiroplasma kunkelii*) e vermelho (fitoplasma) são causadas por microrganismos da classe Mollicutes, transmitidos, no Brasil, pela cigarrinha *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott). Os sintomas dos enfezamentos revelam-se na forma mais conhecida e com maior intensidade, no estágio reprodutivo das plantas de milho (Sabato, 2017).

No caso do enfezamento pálido os sintomas são manchas cloróticas e independentes, produzidas nas bases das folhas que depois coalescem e formam bandas grandes; os entrenós se desenvolvem menos e há redução na altura da planta (“enfezada”); há formação de brotos nas axilas das folhas, e o colmo e as folhas adquirem cor avermelhada. O enfezamento vermelho é caracterizado pela severidade do “enfezamento” e pela maior intensidade da cor vermelha, que chega a ser púrpura nas folhas mais velhas, e por abundante perfilhamento nas axilas foliares e na base das plantas (Bascopé-Quintanilla, 1977). As plantas infectadas com esses microrganismos têm o seu desenvolvimento, absorção de nutrientes, fisiologia e produção de grãos afetados. As plantas apresentam internódios mais curtos, menos raízes e produzem menos grãos que as plantas saudáveis. (Bascopé-Quintanilla, 1977; Nault, 1980; Massola Júnior et al., 1999; Oliveira et al., 2002b). Essas doenças com ocorrência no Brasil e outros países da América do Sul além do México e dos EUA, têm causado prejuízos, principalmente em áreas onde se planta o milho safrinha (Oliveira et al., 2002a).

A manifestação tardia dos sintomas combinada com a não existência de controle químico do espiroplasma, controle pouco eficiente da cigarrinha e com a suscetibilidade dos cultivares disponíveis no mercado influenciam negativamente a produção fazendo com que os enfezamentos assumam um papel importante e atual na cultura do milho. Considerando

⁽¹⁾Pós graduandos em Agricultura Tropical e Subtropical no Instituto Agronômico (IAC), Campinas - SP. E-mails: sarto.rocha@gmail.com; a.bombonato@hotmail.com

⁽²⁾Pesquisadores Científicos, IAC, Campinas – SP. E-mails: elisa@iac.sp.gov.br; sawazaki@iac.sp.gov.br; aildson@apta.sp.gov.br; henok@iac.sp.gov.br

⁽³⁾Pesquisador Científico, APTA, Mococa - SP. E-mail: paulogallo@apta.sp.gov.br





que a estratégia de utilização da resistência genética é a mais eficiente, programas de melhoramento como do IAC que priorizam a obtenção de híbridos interpopulacionais, com alta produtividade e baixo custo de sementes terão que considerar a resistência no desenvolvimento de novos híbridos. Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar híbridos interpopulacionais e populações de milho com relação à resistência ao complexo de enfezamento.

2. Material e Métodos

Os genótipos avaliados foram 26 híbridos interpopulacionais do programa de melhoramento de milho do IAC, obtidos do cruzamento de 13 populações com dois testadores de base genética ampla (T1) e de base restrita (T2). Ainda foram incluídas as populações parentais (variedades e populações derivadas de híbridos comerciais) e 4 testemunhas comerciais (Tabela 1).

O experimento foi conduzido na safrinha 2017 no Polo da APTA, em Mococa - SP, 490 m de altitude, num Argissolo Vermelho Amarelo e condição de sequeiro. A semeadura foi realizada em março de 2017, no espaçamento de 0,6 m entrelinhas, adubado com 350 kg ha⁻¹ da fórmula NPK 08-28-16. Após a emergência foram realizadas práticas culturais recomendadas para a cultura do milho como controle de percevejo e lagarta do cartucho, sem interferir na população de cigarrinha e plantas daninhas, além do desbaste para corrigir a população para 83.000 plantas ha⁻¹. Realizou-se a adubação de cobertura quando as plantas apresentavam 30 dias, com 250 kg ha⁻¹ da fórmula NPK 20-05-20.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso com duas repetições. A parcela experimental foi constituída por duas linhas de 5,0 m, sendo todas utilizadas para as avaliações agronômicas e de incidência de enfezamento.

A infecção das plantas com agentes causais dos enfezamentos ocorreu naturalmente na área devido à migração de cigarrinhas infectadas em experimento com milho pipoca implantado na safra de verão e em fase final de maturação. Análises moleculares visando identificar a presença dos enfezamentos pálido e vermelho foram realizadas em amostras coletadas em experimento de milho safrinha adjacente, com extração de DNA, uso de *primers* específicos desenvolvidos por Módolo et al. (2009), para cada microrganismo, por reações de amplificação e a visualização das amostras em gel de agarose a 1% coradas com brometo de etídeo. Nessas amostras também foi analisado o RNA para verificar a incidência do vírus do mosaico *Sugarcane mosaic virus* – SCMV.





Após a colheita, foi obtida a produtividade de espigas com palha, expressa em kg ha^{-1} . A incidência de plantas com sintomas de enfezamento pálido e vermelho, foi realizada considerando as plantas com sintomas típicos e avaliada no estágio de enchimento de grãos. Os dados de incidência foram transformados pela expressão $Y = \arcsin(\sqrt{x/100})$, para adequar os dados à normalidade. As análises de variância e teste de agrupamento de médias de Scott-Knott foram realizadas no programa GENES (Cruz, 2013).

3. Resultados e Discussão

A presença do enfezamento pálido e vermelho foi confirmada por análise molecular de DNA, utilizando *primers* específicos, sendo que em 80% das amostras foi identificado enfezamento pálido, em 20% delas o enfezamento vermelho e em 85% delas o SCMV.

Os tratamentos apresentaram diferença altamente significativa para a produtividade de espigas com palha (PECP) e incidência de plantas com sintomas de enfezamentos (IPE) associado com o *Sugarcane mosaic virus*, evidenciada pela análise de variância, indicando grande diversidade genética dos materiais quanto aos dois caracteres. O PECP apresentou média de 3995 kg ha^{-1} e o IPE apresentou média de 56,3%. Com relação à PECP, pelo teste Scott-Knott a 5%, houve formação de quatro grupos. No caso de IPE, pelo teste Scott-Knott, formaram-se dois grupos, que podem ser classificados como resistentes e suscetíveis. A correlação linear significativamente alta e negativa de -0,78 entre PECP e IPE, mostrou uma relação inversa, quanto menor a incidência de enfezamentos associado como SCMV maior é a produtividade.

A produtividade dos híbridos interpopulacionais Pop1xT2, Pop8xT1 e Pop11xT1 foi equiparada às produtividades das testemunhas comerciais AS1633 PRO2 e DAS 2B433 PW, apesar do híbrido AS1633 PRO2 ter sido alocado em um grupo com a maior produtividade. Esses híbridos interpopulacionais foram agrupados com o DAS 2B433 PW, mostrando alta produtividade e resistência aos enfezamentos associado ao SCMV. Quanto às populações progenitoras, apresentaram menor IPE e maior produtividade as populações 10 e 8, e quanto aos testadores, a população T1 originado do IAC Maya Latente cruzado com híbridos comerciais tolerantes a seca, teve maior produtividade e menor IPE que T2, podendo ser considerada como resistente. Entre as testemunhas comerciais, teve alta resistência o AS 1633 PRO2. Em outros trabalhos avaliando híbridos experimentais de milho foram reveladas fontes de resistência aos enfezamentos, sendo o C333B e P 3041 e suas respectivas populações derivadas as com menores incidência e as maiores produtividades (Silva et al., 2003).





Tabela 1. Médias de produtividade de espigas com palha de genótipos de milho e incidência de sintomas de enfezamentos na safrinha com infestação natural do complexo de enfezamentos (2017).

Genótipos	Produtividade de espigas com palha (kg ha ⁻¹)	Incidência de plantas com enfezamentos (%)
Pop1xT1	5.685 b	46,8 b
Pop2xT1	4.413 c	54,6 b
Pop3xT1	3.647 d	68,6 a
Pop4xT1	3.136 d	74,2 a
Pop5xT1	4.360 c	42,6 b
Pop6xT1	4.589 c	43,9 b
Pop7xT1	3.583 d	60,2 b
Pop8xT1	6.074 b	21,6 b
Pop9xT1	4.844 c	48,7 b
Pop10xT1	4.414 c	48,8 b
Pop11xT1	5.711 b	34,3 b
Pop12xT1	4.707 c	36,7 b
Pop13xT1	4.127 c	35,5 b
Pop1xT2	6.381 b	33,9 b
Pop2xT2	4.803 c	61,8 b
Pop3xT2	4.664 c	39,9 b
Pop4xT2	2.501 d	79,9 a
Pop5xT2	4.600 c	51,4 b
Pop6xT2	5.166 c	55,0 b
Pop7xT2	3.849 d	53,3 b
Pop8xT2	5.323 c	35,7 b
Pop9xT2	4.067 c	57,8 b
Pop10xT2	4.435 c	49,5 b
Pop11xT2	3.610 d	55,1 b
Pop12xT2	4.837 c	31,9 b
Pop13xT2	2.857 d	60,6 b
Pop1	2.703 d	52,2 b
Pop2	2.732 d	60,5 b
Pop3	3.189 d	91,9 a
Pop4	1.569 d	86,9 a
Pop5	3.998 c	71,0 a
Pop6	3.090 d	93,6 a
Pop7	1.842 d	83,8 a



Tabela 1. Continuação...

Genótipos	Produtividade de espigas com palha (kg ha ⁻¹)	Incidência de plantas com enfezamentos (%)
Pop8	3.858 d	53,1 b
Pop9	2.474 d	82,7 a
Pop10	4.517 c	49,5 b
Pop11	2.538 d	60,4 b
Pop12	3.213 d	61,6 b
Pop13	1.356 d	73,4 a
IAC 8046	3.864 d	71,2 a
DAS2B433 PW	6.193 b	51,8 b
AS1633 PRO2	8.124 a	16,9 b
DKB290 PRO3	2.642 d	64,7 b
Testador 1 (T1)	3.846 d	38,9 b
Testador 2 (T2)	1.630 d	83,7 a
Média PopxT1	4.561	47,4
Média PopxT2	4.392	51,2
Média	3.995	56,3
CV%	21,9	16,8

Médias com letras diferentes diferem pelo Teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. CV: coeficiente de variação.

4. Conclusões

Os híbridos de milho mostraram grande variabilidade frente à ocorrência de enfezamentos devido possivelmente à expressão de diferentes genes envolvidos na resistência à doença. Destacaram-se a testemunha AS 1633 PRO 2, o testador 1, as populações 8 e 10, os híbridos interpopulacionais Pop1xT2, Pop8xT1, Pop11xT1 com resistência aos enfezamentos associado ao SCMV.

Referências

BASCOPE-QUINTANILLA, J.B. **Agente causal de la llamada “raza mesa central” del achaparramiento del maíz.** 1977. 55f. Dissertação (Mestrado) – Escuela Nacional de Agricultura, Colégio de Postgraduados, Chapingo, 1977.

CRUZ, C.D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v.35, n.3, p.271-276, 2013.



MASSOLA JÚNIOR, N.S.; BEDENDO, I.P.; AMORIM, L.; LOPES, J.R.S. Quantificação de danos causados pelo enfezamento vermelho e enfezamento pálido do milho em condições de campo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.24, p.136-142, 1999.

MÓDOLO, D.G; SAWAZAKI, H.E.; SAWAZAKI, E. Suscetibilidade de plantas de milho - pipoca ao enfezamento pálido e vermelho por PCR. **Revista Científica da UFPA**, Belém, v.7, n.1, 2009.

NAULT, L.R. Maize bushy stunt and corn stunt: a comparison of disease symptoms, pathogen host ranges, and vectors. **Phytopathology**, St. Paul, v.70, n.7, p.659-662, 1980.

OLIVEIRA, E.; CARVALHO, R.V.; DUARTE, A.P.; ANDRADE, R.A.; RESENDE, R.O.; OLIVEIRA, C.M.; RECCO, P.C. Mollicutes e vírus em milho na safrinha e na safra de verão. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v.1, p.38-46, 2002a.

OLIVEIRA, E.; MAGALHÃES, P.C.; GOMIDE, R.L.; VASCONCELOS, C.A.; SOUZA, I.R.P.; CRUZ, I.; SHAFERT, R. Growth and nutrition of mollicute infected maize. **Plant Disease**, St. Paul, v.86, n.9, p. 945-949, 2002b.

SABATO, E.O. Enfezamento do milho. In: OLIVEIRA, C.M.; SABATO, E.O. (Eds.). **Doenças em milho: insetos-vetores, mollicutes e vírus**. Brasília: Embrapa, 2017. p.11-24.

SILVA, R.G.; GALVÃO, J.C.C.; MIRANDA, G.V.; OLIVEIRA, E. Controle genético da resistência aos enfezamentos do milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.38, n.8, p.921-928, 2003.

