

**Reação de híbridos de milho transgênicos e convencionais à mancha de macrospora**  
**Giovani J. Piletti<sup>1</sup>, Ricardo T. Casa<sup>2</sup>, Cristiano Sachs<sup>1</sup>, Daiana Bampi<sup>3</sup>, Francine Nerbass<sup>3</sup>, Juan C. Stoltz<sup>4</sup>, Romulo Zancan<sup>4</sup>, Maiquel Finstag<sup>5</sup>, André Gheller, Leila Alves Netto<sup>6</sup>.**

<sup>1</sup> Engº Agrº, Mestrando Produção Vegetal da Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC). Autor para correspondência: [thepiletti@yahoo.com.br](mailto:thepiletti@yahoo.com.br), [crsachs@hotmail.com](mailto:crsachs@hotmail.com).

<sup>2</sup> Eng. Agr. Dr. , Professor do Departamento de Agronomia da UDESC, [a2rtc@cav.udesc.br](mailto:a2rtc@cav.udesc.br).<sup>3</sup> Doutorando produção vegetal da UDESC, [fnerbass@bol.com.br](mailto:fnerbass@bol.com.br), [daianabampi@yahoo.com.br](mailto:daianabampi@yahoo.com.br).<sup>4</sup> Acadêmicos bolsistas CNPq do Curso de Graduação em Agronomia da UDESC, [juan\\_cs@hotmail.com](mailto:juan_cs@hotmail.com), [romulo.zancan@hotmail.com](mailto:romulo.zancan@hotmail.com).<sup>5</sup> Acadêmicos bolsistas de trabalho do Curso de Graduação em Agronomia da UDESC, [maiquel\\_diego@hotmail.com](mailto:maiquel_diego@hotmail.com), [andre\\_gueller@hotmail.com](mailto:andre_gueller@hotmail.com).<sup>6</sup> Acadêmica voluntária do Curso de Graduação em Agronomia da UDESC, [leilaronchi@hotmail.com](mailto:leilaronchi@hotmail.com).

**RESUMO** – O complexo de doenças que afetam a cultura do milho tem causado perdas para produtores rurais. A baixa disponibilidade de híbridos com resistência confiável no complexo de doenças foliares tem dificultado o manejo integrado. Na safra 2011/12 foram comparados cinco híbridos de milho convencional (32R 48, CELERON, DKB 240, DKB 245 e SYN 7205), e cinco transgênicos (32R 48 HX, CELERON TL, DKB 240 YG, DKB 245 RR2 e SYN 7205 TL), quanto a reação a mancha de macrospora causada pelo fungo *Stenocarpella macrospora*. O fungo foi inoculado numa concentração de 120 mil conídios mL<sup>-1</sup> quando as plantas estavam com duas folhas expandidas. Foram inoculadas 25 plantas por híbrido, sendo cinco plantas por vaso com cinco repetições, mantidas em casa de vegetação. A avaliação da severidade da doença foi feita 21 dias após a inoculação. Não foi encontrado nenhum genótipo imune a mancha de macrospora, porém houve variação no nível de suscetibilidade.

Os híbridos DKB 245, 32R 48 e SYN 7205 YG mostraram-se mais suscetíveis, e os híbridos 32R 48HX, DKB 240 YG, DKB 245 RR2, CELERON TL + TC e SYN 7205 apresentaram menor suscetibilidade. Diferenças significativas entre híbridos CELERON e CELERON TL, DKB 240 e DKB 240 YG, DKB 245 e DKB 245 RR2 mostraram suscetibilidade para CELERON TL, DKB 240 YG e DKB 245. Não houve diferença estatística significativa comparando a média de severidade da mancha de macrospora para híbridos convencionais e transgênicos.

**Palavras-chave:** *Zea mays* L, severidade, conidióforo.

### Introdução

O fungo *Stenocarpella macrospora* (Earle) Sutton [Sin. *D. macrospora* Earle], causa doença em colmo e espiga de plantas de milho conhecida como “podridão de diplodia” (WHITE, 1999). A espécie *S. macrospora* causa também mancha foliar (RAM ET AL., 1973; MARASAS e VAN DER WESTHUIZEN, 1979). Em híbridos suscetíveis causa grandes lesões foliares (LATTERELL & ROSSI, 1983) diminuindo a área fotossintetizante e funcionando como fonte de inóculo para infecções de colmo e espiga, que pode ter associação com mancha de macrospora. Nas últimas safras agrícolas no Brasil, houve um crescimento nos

índices de grão ardido, que pode estar relacionado com a mancha de macrospora(CASA et al. 2011)

A intensidade das doenças causadas por *S. macrospora* é maior nas lavouras de monocultura de milho (FLETT & WEHNER, 1991). Nos restos culturais, constituídos principalmente por colmos, o fungo sobrevive saprofiticamente (FLETT et al., 1992), produzindo picnídios e liberando conídios em cirros que são fonte de inóculo primário. Os conídios são transportados pelo vento e/ou respingos de chuva até os sítios de infecção (WHITE, 1999; CASA et al., 2004). Esta situação epidemiológica é comum em todas as regiões brasileiras produtoras de milho.

A incidência deste patógeno nos principais estados produtores de milho tem sido quantificado quando associado aos colmos, porém, a ocorrência da mancha foliar de macrospora, tem sido subestimada pela pesquisa e assistência técnica envolvida com a cultura. O fungo *S. macrospora* quando presente na folha da espiga pode ser fonte de inóculo para podridão da espiga, pois os cirros de conídios produzidos nos picnídios dos tecidos necrosados da folha são removidos pela água da chuva e transportados até a base da espiga onde iniciam a infecção(BAMPI et al., 2011).

A rotação de culturas é uma das principais medidas de controle da doença. No entanto, mesmo em áreas de rotação, mas em regiões com predominância de cultivo de milho e em safras com precipitação acima da normal, a mancha de macrospora tem sido frequente e intensa (CASA et al., 2011). Uma das medidas de controle de doenças foliares em milho é a resistência genética. No entanto, no Brasil, nenhuma empresa que comercializa milho possui indicação de resistência para mancha de macrospora. Por outro lado, Olatinwo et al (1999), em avaliações de oito linhagens a campo constataram resistência genética a mancha de macrospora somente na linhagem 9233-9.

Este trabalho teve por objetivo avaliar o nível de resistência genética de híbridos de milho transgênicos e convencionais a mancha de macrospora.

### **Material e Métodos**

Os isolados de *S. macrospora* foram obtidos de plantas naturalmente infectadas da safra 2010/11. Foram coletados colmos infectados do híbrido AS 1565 em Lages, no planalto catarinense, e do híbrido Tork em Quilombo, no oeste catarinense. Os colmos foram enviados para o Laboratório de Fitopatologia do CAV/UEDESC, Lages, SC, onde passaram pelo

processo de desinfestação em solução de hipoclorito de sódio a 2%, secos e armazenados, para posterior multiplicação do inóculo.

A produção de inóculo foi obtida a partir dos colmos infectados que foram colocados em câmara úmida para hidratação dos picnídios do fungo. Os colmos permaneceram em câmara de crescimento com temperatura de 28 °C durante 48 horas para forçar a extrusão dos cirros de conídios. Os cirros de conídios foram removidos com água estéril por raspagem. Foi preparada uma concentração 120 mil picnidiosporos mL<sup>-1</sup>, mensurados por câmara de Neubauer. Na concentração de esporos foi adicionada uma gota de espalhante Twen 20 para manter os conídios em suspensão. . A suspensão de 12 x10<sup>4</sup> conídios mL<sup>-1</sup> foi aplicada diretamente nas plantas no estágio fenológico V2, com pipetador automático, pela deposição de 2 mL na segunda folha completamente desenvolvida.

O experimento foi conduzido em casa de vegetação com controle de temperatura e umidade relativa do ar, no CAV-UDESC. Foram comparados 10 híbridos de milho, sendo cinco convencionais, (32R 48, CELERON, DKB 240, DKB 245 e SYN 7205) e transgênicos(32R 48 HX, CELERON TL, DKB 240 YG, DKB 245 RR2 e SYN 7205 TL). Os híbridos foram semeados em baldes de cinco litros de capacidade com uma mistura de substrato agrícola, vermiculita e solo, mantendo cinco plantas por vaso e cincorepetições por tratamento totalizando 25 plantas de cada híbrido testado

Após 21 dias da inoculação, quando o milho estava no estágio fenológico V4 (quatro folhas totalmente expandidas) a segunda folha expandida de cada planta foi coletada e levada ao Laboratório de Fitopatologia da UDESC para avaliação da severidade da doença.A avaliação da severidade da doença foi baseada na porcentagem da área necrosada com a mancha de macrospora, ou seja, foi feita a comparação da área total da segunda folha completamente desenvolvida pela porcentagem visual de área foliar afetada (necrose e clorose). Os dados foram submetidos à ANOVA e posterior comparação de médias pelo teste de Tukey (5%). Respostas ente grupos de genótipos foram analisadas por contraste ortogonal.

## **Resultados e Discussão**

Houve diferença significativa entre híbridos na severidade a mancha de macrospora, (Tabela 1). Nenhum híbrido apresentou resistência ou imunidade, contudo se observaram diferentes níveis de suscetibilidade à mancha de macrospora.A severidade média variou de 2,30 a 8,70 para os híbridos CELERON convencional e DKB 245 respectivamente (Tabela 1). Os híbridos DKB 245, 32R 48 e SYN 7205 YG foram os que se mostraram mais suscetíveis, já os

híbridos 32R 48HX, DKB 240 YG, DKB 245 RR2, CELERON TL + TC e SYN 7205 apresentaram menor suscetibilidade, porém não diferiram estatisticamente. Os híbridos DKB 240 e CELERON, apresentaram menor suscetibilidade diferindo significativamente dos demais tratamentos.

Pascual et al. (2002), avaliando 60 híbridos de milho no estágio de grão farináceo com inoculação 40 dias após a semeadura, observaram híbridos resistentes a altamente suscetíveis a mancha de macrospora, sendo dois híbridos resistentes, com severidade foliar entre 1 a 10% e oito híbridos altamente suscetíveis com severidade de até 100%. Neste caso se for considerar tal severidade(1 a 10%) todos os híbridos analisados neste trabalho seriam enquadrados como resistente (Tabela 1). Tal dificuldade em estabelecer critérios e/ou níveis de resistência deve ser esclarecido e especificado de melhor forma pela pesquisa evitando situações subjetivas na reação de híbridos.

Os híbridos DKB 245, 32R 48 e SYN 7205 YG, apresentaram maior suscetibilidade a mancha de macrospora, porém não diferiram estatisticamente dos híbridos 32R 48HX, DKB 240 YG, DKB 245 RR2, CELERON TL e SYN 7205. Os híbridos DKB 240 e CELERON apresentaram menor suscetibilidade diferindo estatisticamente dos demais, com valores de severidade de 4,40% e 2,30% respectivamente(Tabela 1).

Não ocorreram diferenças significativas entre híbridos transgênicos e convencionais que apresentaram severidade média de 6,00% e 5,44% respectivamente (Tabela2), porém a comparação por contrastes entre os híbridos CELERON e CELERON TL, DKB 240 e DKB 240 YG, DKB 245 e DKB 245 RR2, mostraram maior suscetibilidade para CELERON TL, DKB 240 YG e DKB 245. Os contrastes entre os híbridos SYN 7205 e SYN 7205 T, e 32R 48 e 32R 48 HX, não apresentaram diferenças significativas (Tabela 2).

No Brasil vem ocorrendo um aumento do cultivo de híbridos geneticamente modificados, mas poucas são as informações de estudos em nossas condições de campo para avaliar a eficácia dessa tecnologia comparando híbridos convencionais e transgênicos. Híbridos geneticamente modificados vêm sendo usados em larga escala para tentar minimizar perdas ocorridas devido ao ataque de pragas e também por plantas invasoras nos locais de cultivo, no entanto não há informações destes híbridos quanto à severidade de algumas doenças como a mancha de macrospora.

Estudos de variabilidade genética de híbridos em relação à reação para mancha de macrospora são importantes para identificar genótipos mais promissores que podem ser usados em futuros estudos em programas de melhoramento de milho, buscando minimizar os danos

causados por *S. macrospora*. No entanto, a identificação de genótipos com menor suscetibilidade pode ser uma opção imediata para o uso naquelas regiões com ocorrência generalizada da mancha de macrospora.

### Literatura Citada

BAMPI, D. Casa, R. T. WORDELL FILHO, J. A. KUNHEN JUNIOR, P. R. ; PILETTI, G. . Relação entre a mancha de macrospora na folha da espiga e o rendimento e a sanidade de grãos de milho. In: VIII Reunião Técnica Catarinense de Milho e Feijão, 2011, Chapecó - SC. Reunião Técnica Catarinense de milho e feijão, 2011. v. 8.

CASA, R. T. BAMPI, D. KUHNE JUNIOR, P.R. SANGOI, L. BLUM, M. M. C. WORDELL FILHO, J. A. Mancha de macrospora do milho no sul do Brasil. Revista Plantio Direto 13-18.Passo Fundo, 2011.

CASA, R.T. REIS, E.M. SEVERO, R., DENTI, E. TRENTO, S. & BLUM, M.M.C. Prevenção e controle de doenças na cultura do milho. In: Sandini, I.A. & Fancelli, A.L. Milho: estratégias de manejo para a região sul. Guarapuava: Fundação Agrária de Pesquisa Agropecuária, 2000. 209 p.

CASA, R.T., REIS, E. M., KUHNE JUNIOR, P.R., HOFFMANN, L.L. Doenças do milho: Guia de Campo para identificação e controle. Graphel, Lages, 2010.

CASA, R.T; REIS, E.M; ZAMBOLIM, L. Doenças do milho causadas por fungos do gênero *Stenocarpella*. Viçosa Fitopatologia Brasileira. 31 pg., 427-439 :2006.

FLETT, B.C., WEHNER, F.C. & SMITH, M.F. Relationship between maize stubble placement in soil and survival of *Stenocarpella maydis* (*Diplodiamaydis*). Journal of Phytopathology 134: 33-38. 1992.

GRANDIS, A; GRAVENA, J.C; MORAES, M, H, D; BRUNELLI, K.G. MENTEN, J. O; MATIELLO, R; CARVALHO, R; PAVANI, J. Severidade da mancha foliar de diplodia (*stenocarpella macrospora*) e sua relação com a incidência do patógeno e a germinação, em grãos de híbridos comerciais e experimentais de milho (*Zea mays* L.) Revista Brasileira de Milho e Sorgo 129-139, 2008.

LATTERELL, F.M. & ROSSI, A.E. *Stenocarpella macrospora* (= *Diplodia macrospora*) and *S. maydis* (= *D. maydis*) compared as pathogens of corn. Plant Disease 67:725-729. 1983.  
maize in the mid-altitude zone of Nigeria. European Journal of Plant Pathology 105:535-543, 1999.

MARASAS, W. F. O. VANDER WESTHUIZEEM. G. C. A. Diplodiamacrospora: the cause of leaf blight and cob rot of maize (*Zea mays*) in South Africa. Phytomycol 11:61-64. 1979.

OLATINWO. R. CARDWELL, K. MENKIR, A. DEADMAN, M. JULIAN, A. Inheritance of resistance to *Stenocarpella macrospora* (Earle) ear rot of maize in the mid-altitude zone of Nigeria. European Journal of Plant Pathology 105: 535-543, 1999.

PASCUAL, C.B., GUZMAN, P. S., SALAZAR, A. M., Reliable and economical inoculum production method and disease resistance evaluation techniques to *Stenocarpellamacrospora* in maize. *Jornal of Tropical Plant Pathology* 38: 1-8., 2002.

RAM, C. ROCHA, H. M. A new disease of maize in Bahia, Brasil, with special reference to it's casual organism. *Turrialba* 23: 227-230, 1973.

REIS, E.M, CASA, R.T, BRESOLIN, A.C.R, Manual de diagnose e controle de doenças de milho. 141p. GraphelEditora. 2004.

WHITE, D. C. Compendium of corn disease.3th Edition. Saint Paul MN. Americam. Phitopatological Society. Aos Press. 1999.

**Tabela 1**-Severidade da mancha de macrospora em plantas jovens de híbridos de milho inoculadas com o fungo *Stenocarpella macrospora*. Lages, SC, 2012.

Híbrido	Severidade Média (%) <sup>1</sup>
DKB 245	8,6 a
32R 48	7,7 a
SYN 7205YG	7,0 a
32R 48 HX	6,7 ab
DKB 240 YG	6,7 ab
DKB 245 RR 2	6,2 ab
CELERON TL + TC	5,9 ab
SYN 7205	4,6 ab
DKB 240	4,4
	c
CELERON	2,3
	c
C.V. (%)	33,65

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

<sup>1</sup>Média da severidade considerando dois isolados do fungo *Stenocarpella macrospora*.

**Tabela 2** - Comparação da severidade média da mancha de macrospora entre híbridos de milho convencionais e transgênicos. Lages, SC, 2012

Híbrido	Média Severidade (%)
32R48	7,70 <sup>ns</sup>
32R48HX	6,70
CELERON	2,30 <sup>*</sup>
CELERONTL	5,90
DKB 240	4,40 <sup>*</sup>
DKB 240 YG	6,70
DKB 245	8,60 <sup>*</sup>
DKB 245 RR 2	6,20
SYN 7205	4,20 <sup>ns</sup>
SYN 7205T	4,50
TRANSGÊNICOS	6,00 <sup>ns</sup>
CONVENCIONAIS	5,44
C.V. (%)	30,68

\* ns: não significativos a 5% de Probabilidade, \* significativo a 5% de Probabilidade.  
<sup>1</sup> Média de severidade de dois isolados do fungo *Stenocarpella macrospora*