

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

FERNANDA PINHEIRO BERNARDES

RESISTÊNCIA DE HÍBRIDOS DE MILHO À PODRIDÃO DE MACROPHOMINA E À ANTRACNOSE
DO COLMO EM DOIS AMBIENTES

UBERLÂNDIA – MG

2023

FERNANDA PINHEIRO BERNARDES

RESISTÊNCIA DE HÍBRIDOS DE MILHO À PODRIDÃO DE MACROPHOMINA E À ANTRACNOSE
DO COLMO EM DOIS AMBIENTES

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia
como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em
Agronomia – Mestrado.

Área de concentração: Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Cezar Juliatti

Co-orientador: Dr. Rodrigo Vêras da Costa

UBERLÂNDIA – MG

2023



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Agronomia				
Defesa de:	Dissertação de Mestrado 002/2023 PPGAGRO				
Data:	Vinte e sete de fevereiro de dois mil e vinte e três	Hora de início:	10:00	Hora de encerramento:	12:40
Matrícula do Discente:	12112AGR003				
Nome do Discente:	Fernanda Pinheiro Bernardes				
Título do Trabalho:	Resistência de híbridos de milho à podridão por macrofomina e à antracnose de colmo, em dois ambientes				
Área de concentração:	Produção Vegetal				
Linha de pesquisa:	Controle e Manejo Integrado de Doenças				

Reuniu-se no Anfiteatro 3C, Campus Santa Uberlândia, Banca Examinadora, de pelo Colegiado do Programa Pós-graduação Agronomia, assim composta: [Nilvanira Donizete Tebaldi - UFU; Osvaldo Toshiyuki Hamawaki - UFU; Dagma Dionísia da Silva - EMBRAPA; Fernando Cezar Juliatti - UFU orientador(a) do(a) candidato(a).

o(a) presidente Juliatti, apresentou Examinadora e o candidato(a), agradeceu a presença do público, e concedeu ao Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação do Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

seguir senhor(a) e palavra, pela sucessivamente, examinadores(as), que passaram candidato(a). Ultimada arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

Aprovado.

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida e achada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Nilvanira Donizete Tebaldi, Professor(a) do Magistério Superior**, em 27/02/2023, às 12:47, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Oswaldo Tosiuyuki Hamawaki, Professor(a) do Magistério Superior**, em 27/02/2023, às 12:49, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Dagma Dionísia da Silva Araújo, Usuário Externo**, em 27/02/2023, às 20:05, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Fernando Cezar Juliatti, Professor(a) do Magistério Superior**, em 07/03/2023, às 12:31, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **4271187** e o código CRC **81802626**.

FERNANDA PINHEIRO BERNARDES

RESISTÊNCIA DE HÍBRIDOS DE MILHO À PODRIDÃO DE MACROPHOMINA E À
ANTRACNOSE DO COLMO EM DOIS AMBIENTES

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Mestrado.

Área de concentração: Produção Vegetal

Orientador: Prof. Dr. Fernando Cezar Juliatti

Co-orientador: Dr. Rodrigo Vêras da Costa

Uberlândia, 27/02/2023

Banca Examinadora:

Fernando Cezar Juliatti – Prof. Dr. (UFU)

Nilvanira Donizete Tebaldi – Prof.^a Dra. (UFU)

Oswaldo Toshiyuki Hamawaki – Prof. Dr. (UFU)

Dagma Dionísia da Silva Araújo – Pesq. Dra. (Embrapa Milho e Sorgo)

Dedico esse trabalho ao meu avô Livingstone Marcelino Bernardes, e aos meus primos Alice, Vitor, Davi e João Pedro.

AGRADECIMENTOS

À minha família, especialmente aos meus pais, Estácio e Patrícia, por sempre me apoiar, me incentivar e confiar em mim. Obrigada por sempre me dar força e estímulo para continuar buscando os meus sonhos.

A meu professor orientador, Prof. Dr. Fernando Cezar Juliatti, pela confiança para que eu realizasse os experimentos em outro estado e também pelos ensinamentos, prontidão e reconhecimento durante o mestrado.

Ao meu coorientador, Dr. Rodrigo Vêras da Costa, por ter me recebido na Embrapa desde o estágio. Já são praticamente seis anos que recebo sua orientação e ensinamentos. Agradeço pelo auxílio, motivação, paciência, confiança, dedicação e pela amizade que foi construída durante essa caminhada.

Ao Dr. Rodrigo Munhoz (Txárli-Braun) e sua esposa Carol pela disponibilidade da área experimental na Fazenda Invernadinha e todo suporte.

Ao Dr. Leonardo Campos, da Embrapa Soja, pelos auxílios durante as análises estatísticas.

A todos os estagiários, bolsistas e funcionários da Embrapa que me auxiliaram nos plantios, manutenção dos patógenos, inoculações, coletas e avaliações: Bia Lima, Álysson, César, Guilherme, Victor, Reilython, Vilmar, Leonardo, Thiago, Afra, Itila, Cristina, Daniel, Jéo, Ray. Especialmente gostaria de agradecer às amigas que este trabalho me proporcionou e que estiveram ao meu lado durante toda execução do experimento, compartilhando os dias de luta e também os de glória: Fernanda Tuti, Bia e Micas. A ajuda de vocês foi fundamental nesta pesquisa. Muito obrigada!

Aos amigos do Programa de Pós-Graduação que tive a oportunidade de conhecer e dividir os momentos difíceis e também os de descontração durante o curso, Josef, Marcela e Giulyana. Muito obrigada!

Ao Dr. Antônio Carlos de Oliveira, da Embrapa Milho e Sorgo, pelo auxílio na análise estatística.

À Universidade Federal de Uberlândia e aos funcionários do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, agradeço o apoio e a oportunidade.

A todos professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade pelos ensinamentos transmitidos.

À Izanete da Silva, pelas conversas, reflexões e ensinamento, que foram muito importantes durante este processo.

A todos que contribuíram de alguma forma para que essa pesquisa fosse realizada. Muito obrigada!

“A felicidade só é real quando compartilhada.”

(Henry David Thoreau)

BERNARDES, Fernanda Pinheiro. **Resistência de híbridos de milho à podridão de macrophomina e à antracnose do colmo em dois ambientes**. 2023. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais, 2023.¹

RESUMO

A incidência e severidade de podridões de colmo de milho aumentam a cada safra, principalmente no cultivo de milho na segunda safra, quando condições climáticas como temperatura elevada e veranicos acontecem, favorecendo os patógenos. Os fungos *Colletotrichum graminicola* (antracnose do colmo) e *Macrophomina phaseolina* (podridão de macrophomina) estão entre os principais patógenos que causam as podridões de colmo em milho. O semeio de híbridos resistentes é considerado a principal estratégia para o controle dessas doenças, porém, existem poucos relatos na literatura a respeito do nível de resistência de híbridos comerciais de milho a esses patógenos. Assim, o objetivo do trabalho foi caracterizar híbridos comerciais de milho quanto à resistência a esses fungos por meio da inoculação artificial em campo. Essa dissertação está dividida em dois capítulos, sendo o primeiro capítulo, o referencial teórico que aborda os aspectos gerais da cultura do milho, dos fungos *C. graminicola* e *M. phaseolina* e da resistência genética de plantas às doenças. O segundo capítulo teve como objetivo caracterizar híbridos de milho quanto a resistência aos dois patógenos. Foram realizados dois experimentos na segunda safra de 2021/22 em áreas e épocas distintas, na Fazenda Invernadinha, em Paraíso do Tocantins – TO. No primeiro experimento houve maior disponibilidade hídrica comparado ao segundo, fator que influenciou na severidade das doenças, de forma que no ambiente 1 houve maior severidade de antracnose e no ambiente 2 maior severidade de podridão de macrophomina. Entre os trinta híbridos comerciais avaliados, para a antracnose do colmo, os materiais resistentes foram B2801 VYHR, P3707 VYH e 20A44 VIP3, e para a podridão de macrophomina, os híbridos K9606 VIP3, NS88 VIP3, CRV2654 PRO2 e P3707 VYH. O híbrido P3707 VYH apresentou resistência à ambas as doenças.

Palavras-chaves: *Colletotrichum graminicola*; *Macrophomina phaseolina*; resistência genética.

¹ Orientador: Dr. Fernando Cezar Juliatti – UFU. Coorientador: Dr. Rodrigo Vêras da Costa – Embrapa Milho e Sorgo.

BERNARDES, Fernanda Pinheiro. **Resistance of maize hybrids to charcoal rot and stem anthracnose in two environments**. 2023. Dissertation (Master's Degree in Agronomy) – Federal University of Uberlândia, Minas Gerais, 2023.¹

ABSTRACT

The incidence and severity of corn stalk rot increases in each harvest, especially in maize cultivation in off-season, when climatic conditions such as high temperature and dry occur, favoring pathogens. The fungi *Colletotrichum graminicola* (stem anthracnose) and *Macrophomina phaseolina* (charcoal rot) are among the main pathogens that cause stem rot in maize. The sowing of resistant hybrids is considered the main strategy for controlling these diseases, however, there are few reports in the literature regarding the level of resistance of commercial corn hybrids to these pathogens. Thus, the objective of this work was to characterize commercial corn hybrids in terms of resistance to these fungi through artificial inoculation in the field. This dissertation is divided into two chapters, the first chapter is the theoretical framework that addresses the general aspects of the corn crop, the fungi *C. graminicola* and *M. phaseolina* and the genetic resistance of plants to diseases. The second chapter aimed to characterize corn hybrids in terms of resistance to both pathogens. Two experiments were carried out in the off-season of 2021/22 in different areas and times, at Fazenda Invernadinha, in Paraíso do Tocantins – TO. In the first experiment there was greater water availability compared to the second, a factor that influenced the severity of the diseases, so that in environment 1 there was a greater severity of anthracnose and in environment 2 a greater severity of macrophomina rot. Among the thirty commercial hybrids evaluated, for stem anthracnose, the resistant materials were B2801 VYHR, P3707 VYH and 20A44 VIP3, and for macrophomina rot, the hybrids K9606 VIP3, NS88 VIP3, CRV2654 PRO2 and P3707 VYH. The hybrid P3707 VYH showed resistance to both diseases.

Keywords: *Colletotrichum graminicola*; *Macrophomina phaseolina*; *genetic resistance*.

¹ Supervisor: Dr. Fernando Cezar Juliatti – UFU. Co-Supervisor: Dr. Rodrigo Vêras da Costa – Embrapa Milho e Sorgo.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 - Metodologia usada para inoculação de *Macrophomina phaseolina*: béquer com isolado do patógeno e palitos colonizados pelo fungo41
- Figura 2 - Método utilizado para inoculação artificial de *Colletotrichum graminicola*, através do uso de palitos mergulhados na suspensão de esporos na concentração de 10^6 mL⁻¹.....42
- Figura 3 - (A) Desinfecção superficial do colmo com pano umedecido com álcool 70%, (B) perfuração dos colmos com perfurador manual para inserção dos palitos, (C) inserção dos palitos colonizados com os patógenos e as testemunhas43
- Figura 4 - Escala diagramática utilizada na avaliação da severidade das podridões de colmo causadas por *Colletotrichum graminicola* e *Macrophomina phaseolina* (Nicoli et al., 2015)44
- Figura 5 - Balanço hídrico avaliado a cada 10 dias de fevereiro a julho de 2022 no Ambiente I (Latossolo) e no Ambiente II (Plintossolo). Fazenda Invernadrinha, Paraíso do Tocantins, Tocantins, 202245
- Figura 6 - (A) Testemunhas inoculadas com palito estéril; (B) Sintomas da antracnose em colmo de milho inoculado com *Colletotrichum graminicola*; (C) Sintomas da podridão de *Macrophomina* em colmo de milho inoculado com *Macrophomina phaseolina*47
- Figura 7 - Porcentagem de severidade das podridões de colmo causadas por *Colletotrichum graminicola* e *Macrophomina phaseolina* e redução no peso de Matéria Seca Total (MST) para os dois fungos, nos dois ambientes experimentais. Fazenda Invernadrinha, Paraíso do Tocantins, Tocantins, 202253

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Híbridos de milho utilizados nos experimentos de fenotipagem para resistência a antracnose do colmo (*Colletotrichum graminicola*) e podridão de macrofomina (*Macrophomina phaseolina*) em campo. Fazenda Invernadinha, Paraíso do Tocantins, Tocantins, 2022 39
- Tabela 2 - Resumo da análise de variância conjunta para a severidade da podridão de macrofomina (*Macrophomina phaseolina*) e antracnose do colmo (*Colletotrichum graminicola*) em híbridos de milho, em experimentos conduzidos em dois ambientes na safrinha. Fazenda Invernadinha, Paraíso do Tocantins, Tocantins, 202246
- Tabela 3 - Severidade da antracnose do colmo (*Colletotrichum graminicola*) e da podridão de macrofomina (*Macrophomina phaseolina*) inoculados nos colmos dos híbridos de milho em dois ambientes em experimento de campo. Fazenda Invernadinha, Paraíso do Tocantins, Tocantins, 202248
- Tabela 4 - Médias de severidade da antracnose (*Colletotrichum graminicola*) e de podridão de macrofomina (*Macrophomina phaseolina*) nos entrenós acima do inoculado e número total de entrenós colonizados pelos patógenos nos dois ambientes. Fazenda Invernadinha, Paraíso do Tocantins, Tocantins, 202251
- Tabela 5 - Resumo da análise de variância conjunta para a redução de Peso de Matéria Seca Total (PMST) e severidade das podridões de colmo (*Macrophomina phaseolina* e *Colletotrichum graminicola*) em híbridos de milho, em experimentos conduzidos em dois ambientes na safrinha. Fazenda Invernadinha, Paraíso do Tocantins, Tocantins, 202252

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	12
1 INTRODUÇÃO GERAL	12
2 REFERENCIAL TEÓRICO	14
2.1 Antracnose do colmo (<i>Colletotrichum graminicola</i>).....	14
2.1.1 <i>Taxonomia</i>	14
2.1.2 <i>Etiologia e epidemiologia</i>	15
2.1.3 <i>Sintomatologia</i>	16
2.1.4 <i>Ciclo da doença</i>	17
2.1.5 <i>Manejo da doença</i>	18
2.2 Podridão de macrofomina (<i>Macrophomina phaseolina</i>)	19
2.2.1 <i>Taxonomia</i>	19
2.2.2 <i>Etiologia e epidemiologia</i>	20
2.2.3 <i>Sintomatologia</i>	21
2.2.4 <i>Ciclo da doença</i>	21
2.2.5 <i>Manejo</i>	22
2.3 Resistência genética de plantas às doenças	23
2.3.1 <i>Mecanismos de resistência de plantas à patógenos</i>	24
REFERÊNCIAS	26
CAPÍTULO 2	34
RESISTÊNCIA DE HÍBRIDOS DE MILHO À PODRIDÃO DE MACROPHOMINA E À ANTRACNOSE DO COLMO EM DOIS AMBIENTES	34
RESUMO	34
ABSTRACT	35
1. INTRODUÇÃO.....	36
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	38
2.1 Localização e descrição da área experimental	38

2.2 Delineamento experimental	38
2.3 Isolamento e manutenção dos inóculos	40
2.4 Inoculação dos patógenos	40
2.5 Avaliações	43
2.6 Balanço hídrico	44
2.7 Análise estatística	45
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
4. CONCLUSÕES	57
REFERÊNCIAS	58

1. INTRODUÇÃO GERAL

O cultivo do milho (*Zea mays* L.) é realizado mundialmente devido à sua importância como base alimentar para as cadeias produtivas de proteína animal. No Brasil, o grão é cultivado em todas as regiões do país, em diferentes épocas e sistemas de produção, de acordo com as condições climáticas regionais, resultando em três safras anuais: a primeira, a safra de verão, ocorre no início do período chuvoso; a segunda, a safrinha, é semeada após a colheita da soja e realizada normalmente nos meses de fevereiro e março; e a terceira, a safra do Nordeste, é semeada no período chuvoso, a partir de abril/maio (COSTA et al., 2014; COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2023).

A produção de milho no Brasil, referente à segunda safra de 2021/22, foi de 86.120,6 mil toneladas, 11% a menos do que a produção estimada para a safra de 2022/23, que avança por todas as regiões do Brasil. A área cultivada com o cereal apresentou acréscimo de, aproximadamente, 9% em relação à safra de 2020/21, com 16.378,6 mil hectares cultivados e para a safra de 2022/23, estima-se um aumento de cerca de 3,3% na área total plantada (CONAB, 2022).

Essa expansão do cultivo de milho pode ser explicada por vários fatores, como a ampliação da época de semeadura, principalmente após a colheita da soja, o emprego de novas tecnologias no campo, o cultivo da semente em regiões do Norte e do Centro-Oeste e o desenvolvimento de híbridos mais produtivos (SILVA, 2006). Porém, com o aumento da área cultivada, a ampliação das épocas de cultivo e o uso do sistema de plantio direto sem a rotação de culturas houve também o aumento da incidência e severidade de doenças que podem ocorrer em várias partes da planta, como raízes, colmos, folhas e espigas. No colmo, as podridões afetam o enchimento de grãos e causam o tombamento das plantas no final do ciclo, devido ao comprometimento da translocação da água e de nutrientes causado pela colonização dos fungos nos tecidos vasculares das plantas (CASA et al., 2007).

As principais podridões de colmo na cultura do milho são a antracnose (*Colletotrichum graminicola* (Ces.) G.V. Wils.), a podridão seca ou podridão de macrofomina (*Macrophomina phaseolina* Tassil), podridão de diplodia (*Stenocarpella macrospora* Earle e *S. maydis* Berk.) e a podridão de fusarium

(*Fusarium graminearum* Schewabe e *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg), (CASELA et al., 2006; RIBEIRO et al., 2005).

Devido ao posicionamento dos patógenos nas raízes e na base do colmo das plantas, o uso de fungicidas não é uma medida eficaz, o que dificulta o manejo dessas doenças (COSTA et al., 2017). O uso de medidas em conjunto, como adubação equilibrada, controle de pragas e de plantas daninhas, densidade correta de plantas e época de plantio são fundamentais para o manejo das podridões de colmo no milho. Além disso, a escolha de híbridos com maiores níveis de resistência genética às doenças é a melhor medida de controle (COSTA et al., 2017; NICOLI et al., 2015), pois o semeio de híbridos resistentes contribui para a redução do uso de produtos químicos e para a redução do inóculo dos patógenos no solo.

Apesar da efetividade da resistência genética, são escassas as informações sobre os níveis de resistência de híbridos comerciais de milho à antracnose e à podridão de macrofomina, questões que suscitaram esta pesquisa, cujo objetivo central é caracterizar híbridos comerciais de milho quanto à resistência a antracnose do colmo (*Colletotrichum graminicola*) e à podridão de macrofomina (*Macrophomina phaseolina*).

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Antracnose do colmo (*Colletotrichum graminicola*)

A antracnose do colmo do milho é causada pelo fungo *Colletotrichum graminicola*, que pode infectar toda a planta, desde o pendão até as raízes, com diferentes sintomas em cada tecido. Esses sintomas são mais visíveis após o florescimento do milho, porém, a infecção pode ocorrer em qualquer fase do desenvolvimento: desde a semeadura, devido à presença de estruturas do fungo na palhada, até a fase foliar, por lesões nas folhas, quando ocorre a contaminação da antracnose nesse tecido (NICOLI et al., 2015).

Os primeiros relatos da doença começaram a ocorrer a partir da década de 1970, no centro-norte dos Estados Unidos, onde ocorreram epidemias. Warren et al. (1973) relatam que, em Indiana, houve a suspensão da produção de milho doce por dois anos devido a um surto de antracnose no estado. Nos anos seguintes, estendendo até a década de 1990, são relatados aumento das epidemias causadas por *C. graminicola* nos Estados Unidos (PARREIRA, 2012). No Brasil, o primeiro relato da doença ocorreu em campos de milho, em Campinas, interior de São Paulo, segundo Silveira et al. (1965). Atualmente a doença é tida como uma das principais doenças de colmo que acometem o milho no país, impactando negativamente a produtividade em todas as regiões produtoras.

2.1.1 Taxonomia

O gênero *Colletotrichum* tem um amplo histórico de estudo taxonômico, sendo suas espécies descritas desde 1790, quando autores já avaliavam as estruturas de suas frutificações. Alguns pesquisadores perceberam a semelhança entre o *Colletotrichum* e *Vermicularia*, que logo teve seus corpos de frutificação considerados como uma fase do desenvolvimento dos acérvulos de *Colletotrichum* (MENEZES, 2006).

Diante de todas as propostas de denominação do gênero *Colletotrichum*, Corda (1837) caracterizou-o como fungo de conídios hialinos, fusiformes, retos

ou curvados e com acérvulos no formato de setas. Além disso, estudos encontraram diversas espécies que podem ser endofíticas, saprófitas, fitopatogênicas e até mesmo patogênicas aos seres humanos (LIMA, 2013).

O fungo *Colletotrichum graminicola* (Ces.) G. W. Wils (teleomorfo *Glomerella graminicola* D. J. Politis), especificamente, foi descrito por Wilson em 1914, junto com outros fungos semelhantes, como *Dicladium*, *Colletotrichum* e *Steirochaete*, e trata-se do agente causador da antracnose nas plantas (PARREIRA, 2012).

Parreira et al. (2012) relatam que os critérios taxonômicos desse fungo sobrepõem-se já que algumas espécies possuem grande gama de hospedeiros, sendo alguns deles infectáveis por mais de uma espécie do gênero. No intuito de identificar e classificar as espécies de *Colletotrichum*, utilizam-se ferramentas moleculares. No que se referem aos estudos de taxonomia do gênero *Colletotrichum*, baseados em análises morfológicas, são complicados e, para tentar resolver esse problema, pesquisadores têm realizado estudos morfológicos associados a metodologias moleculares, como sequenciamento do DNA, além de pesquisas com as características culturais, patogênicas e fisiológicas para melhor identificação das espécies do gênero (LIMA, 2013).

2.1.2 Etiologia e epidemiologia

Autores relatam a presença do gênero *Colletotrichum* em várias regiões do mundo e em diferentes climas, como tropical, subtropical e temperado, sendo considerado um fungo cosmopolita. Porém, foi constatado que suas lesões apresentam maior severidade nas regiões tropicais e subtropicais (MENEZES, 2006).

O *C. graminicola* apresenta micélio septado, ramificado, hialino e granular, com estruturas produzidas em acérvulos. Sua forma perfeita ou fase sexual é a *Glomerella graminicola* Politis e é raramente encontrada na natureza (COSTA et al., 2003).

Os conídios são produzidos sobre conidióforos curtos, hialinos, retos, não septados nem ramificados, que formam setas entre si com cerca de 100 μ . Os conídios são caracterizados por serem unicelulares, hialinos, falciformes,

medindo em torno de $30\mu \times 5\mu$. Essas estruturas são formadas nos acérvulos, que se encontram em cavidades subepidérmicas nas superfícies dos colmos e das folhas (FERREIRA & CASELA, 2001).

Para que ocorra a germinação dos conídios é necessária a presença de água, já que o fungo é favorecido por ambientes com alta umidade. Além disso, a temperatura ideal para o desenvolvimento do *C. graminicola* e penetração no hospedeiro varia entre 25°C a 30°C . Em trabalhos de pesquisa, o fungo é produzido em meio de aveia-ágar, em luz contínua e em temperatura média de 25°C (LEONARD & THOMPSON, 1976; SKOROPAD, 1967).

2.1.3 Sintomatologia

C. graminicola pode infectar qualquer órgão da planta, em qualquer fase de desenvolvimento, sendo as folhas e os colmos as partes mais afetadas. Nas folhas, os sintomas são lesões necróticas arredondadas a ovais, de coloração palha, que podem se juntar e formar lesões extensivas. No colmo, a podridão ocorre principalmente na fase de maturação das plantas, com sintomas na epiderme caracterizados por lesões encharcadas, estreitas e longitudinais, de coloração avermelhada que se tornarão pretas ou amarronzadas devido à presença de acérvulos. Também ocorrem sintomas nas raízes e nas sementes, porém, a doença é mais comum como podridão de colmo e antracnose foliar (COSTA et al., 2003; MORELLO, 2000).

Nas plantas suscetíveis, as lesões apresentam coloração castanho claro de formas ovais ou alongadas, com bordas vermelhas ou alaranjadas que podem crescer e abranger toda a folha. Além disso, genótipos que são altamente suscetíveis, quando infectados no início de desenvolvimento, podem ter morte precoce. Já em plantas resistentes, as lesões são menores e cloróticas (PARREIRA et al., 2012). Quando as infecções ocorrem na fase inicial do desenvolvimento das plantas, os sintomas apresentados podem ser difíceis de serem detectados, porém, após o florescimento, as lesões apresentam aspecto elíptico, encharcado e de coloração escura, que logo se coalescem e formam as áreas necrosadas (CASELA et al., 2006).

Após a colonização dos tecidos pelo patógeno, os entrenós tornam-se flácidos e frágeis e os colmos adquirem coloração escura. Essa colonização e fragilidade nos entrenós pode causar a morte prematura da planta de milho ou até mesmo o tombamento, causando redução na produtividade das lavouras, além de provocar outros problemas como a ocorrência de plantas de milho voluntárias, que podem afetar a produtividade da cultura da próxima safra, ou também servirem como hospedeiras de patógenos após a colheita do milho (COSTA et al., 2008, PARREIRA et al., 2012).

2.1.4 Ciclo da doença

Bergstrom e Nicholson (1999) descrevem todo o ciclo da doença em cinco etapas, iniciando com a produção de conídios, que são o inóculo primário do fungo, normalmente, presente nos restos culturais na palhada. As infecções primárias ocorrem através dessas estruturas que são depositadas nas folhas das plântulas através de respingos da chuva. Em seguida, ocorrem as fases de queima das plântulas, de queima foliar, de colonização sistêmica através das raízes até o colmo e a fase saprofítica, quando os esporos podem ser transportados para outras plantas hospedeiras, iniciando uma nova infecção (BERGSTRON & NICHOLSON, 1999; SUKNO et al., 2008).

Os conídios germinam somente na presença de água livre ou em ambientes com umidade relativa elevada. Essas estruturas são envolvidas por uma matriz gelatinosa constituída de polissacarídeos e proteínas solúveis em água, que o protegem da dessecação e auxiliam na eficiência de germinação e penetração no tecido do hospedeiro (MENEZES, 2006). Além disso, os conídios são produzidos em grandes quantidades pelo patógeno, em condições ambientais de alta umidade, podendo ser infecciosos para qualquer órgão da planta e disseminados por respingos de chuva (LIMA, 2013).

O processo infeccioso inicia-se com os conídios do fungo aderindo à superfície da planta hospedeira, seguindo da emissão do tubo germinativo e formação de apressório. Essas estruturas germinam e penetram as células epidérmicas, desenvolvendo hifas nos órgãos infectados das plantas (AGRIOS,

2005; LIMA, 2016; PERFECT et al., 1999). Os conídios do patógeno são liberados somente quando os acérvulos encontram-se em ambientes úmidos e podem ser disseminados por condições ambientais como fortes ventos e chuvas, respingos de chuva, contato com insetos e também por contato com ferramentas contaminadas (AGRIOS, 2005).

2.1.5 Manejo da doença

Para o controle da antracnose no milho, as estratégias recomendadas são a rotação e a sucessão com culturas não hospedeiras, uso de sementes tratadas com fungicidas, densidade adequada de plantas, nutrição balanceada em relação ao nitrogênio e ao potássio. Essas práticas, associadas ao uso da resistência genética, podem ser altamente eficientes e econômicas e ambientalmente corretas (CASELA et al., 2006; MATIELLO et al., 2013; NICOLI et al., 2016; SARTORI et al., 2004; ZAMBOLIM et al., 2000).

Devido à localização interna do *C. graminicola* nos colmos, o uso de fungicidas não é eficaz no manejo dessa doença por ser uma área inacessível pela pulverização foliar. Além disso, a detecção precoce da antracnose do colmo de milho é difícil, uma vez que os sintomas da doença são mais visíveis tardiamente no ciclo da cultura, quando a doença já está estabilizada, não sendo possível realizar a aplicação de algum produto químico (KRUGER et al., 2016; ZAMBOLIM, 2002).

Diferentes níveis de resistência à antracnose do colmo foram relatados em diversos trabalhos, podendo ser classificados como resistentes, moderadamente resistentes e suscetíveis. Os híbridos resistentes apresentam pouco ou nenhum sintoma da doença, mesmo quando há alta pressão de inóculo, enquanto as suscetíveis são altamente afetadas pelo patógeno. A seleção de híbridos resistentes ao *C. graminicola* é uma das principais estratégias de manejo da doença, porém, as informações de fontes efetivas de resistência são escassas e desatualizadas (AGRIOS, 2005; NICOLI et al., 2016).

2.2 Podridão de macrophomina (*Macrophomina phaseolina*)

Macrophomina phaseolina é um fungo habitante do solo e um dos principais patógenos de plantas nos países tropicais e subtropicais de clima árido e semiárido. É considerado um fungo cosmopolita e polífago por conseguir infectar mais de 500 espécies de plantas, sendo muitas delas importantes economicamente, como feijão-comum, soja, milho, sorgo, girassol, algodão, amendoim, entre outras (GUPTA et al., 2012).

Os primeiros relatos do fungo foram no Missouri, nos Estados Unidos, em 1963. Em 1973, houve relatos na Índia, onde pesquisadores recuperaram isolados do fungo em tecidos vegetais infectados do solo. Já no Brasil, no ano de 1973, houve relatos de infecção por *Macrophomina* em até 5% do total de plantas coletadas nos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul (LEHMAN et al., 1976; MEYER et al., 1974). Nos estados da região conhecida como MATOPIBA (Maranhão, Tocantins, Piauí e Bahia), a podridão de macrophomina é uma das principais doenças que acometem a produção do milho segunda safra, de acordo com monitoramentos realizados por Costa et al. (2019).

2.2.1 Taxonomia

O fungo *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid pertence ao Reino Fungi, ao filo Ascomycota, classe Dothideomycetes, ordem Botryosphaerales, família *Botryosphaeriaceae* e à classe dos Coelomicetos, não sendo identificadas raças, nem a presença de um teleomorfo (CROUS et al., 2006, MYCOBANK, 2022; ZANELLA, 2018).

A primeira descrição do fungo foi feita por Halsted (1890), que observou suas estruturas de resistência e o classificou como *Rhizoctonia bataticola* (Taub.). Anos depois, o estágio de picnídios do fungo foi descrito, por Tassi (1901), como *Macrophoma phaseolina* e, por Ashby (1927), como *Macrophomina phaseoli* (FERREIRA, 2019). Por fim, Goidanich (1947) denominou esse fungo como *Macrophomina phaseolina* após revisar a taxonomia do gênero que, até então, era composto apenas por essa espécie. Porém, Sarr et al. (2014) identificaram outra espécie do fungo, a *M.*

pseudophaseolina, através de análises polifásicas de 189 isolados fúngicos. Nesse estudo, os autores observaram que esses dois fungos são muito semelhantes entre si, a não ser pelos conídios da *M. pseudophaseolina* que são mais curtos.

No Brasil, a primeira identificação do fungo ocorreu em Campinas, São Paulo, em 1935, quando Bittancourt (1935) notou a doença da podridão cinzenta do caule ocorrendo em lavouras de feijão comum (FERREIRA, 2019).

2.2.2 Etiologia e epidemiologia

A identificação de *Macrophomina phaseolina* é dificultada por conta da semelhança entre os diferentes isolados do fungo, que podem ser obtidos nas raízes dos hospedeiros, no solo ou em sementes. Existem muitos estudos avaliando os melhores métodos para isso, sendo eles: caracterização morfológica e cultural, métodos bioquímicos e reação de cadeia polimerase (PCR) com técnicas moleculares (BABU et al., 2018).

O fungo desenvolve-se em altas temperaturas (28-35°C), baixa umidade do solo (capacidade de campo abaixo de 50%) e estresse hídrico, principalmente após o florescimento da planta (FERREIRA & CASELA, 2003). O fungo é capaz de sobreviver no solo através de microescleródios produzidos nas raízes e nos tecidos do caule da planta hospedeira que, dependendo das condições climáticas, podem permanecer viáveis por até 15 anos. Os microescleródios são estruturas de resistência do fungo, formadas pela compactação de hifas e apresentando coloração escura por conta da presença de melanina, o que causa o aspecto encarvoado e cinzento às raízes e aos colmos das plantas contaminadas (BOARETTO & DANIELLI, 2012). Essas estruturas são também de sobrevivência e são adaptadas para diversas condições edafoclimáticas, como solos pouco férteis e temperaturas elevadas, condições características do Brasil (KAUR et al., 2012).

Macrophomina phaseolina é capaz de se desenvolver em meio de cultura BDA (Batata, Dextrose e Ágar) e em meios de compostos de arroz e ágar. Seu micélio é unicelulado e cresce de forma rápida, em torno de 7cm em 7 dias.

Suas colônias têm coloração branca nas primeiras 24 horas de crescimento e após 60 horas tornam-se negras por conta da alta concentração de microescleródios formados no meio (ZANELLA, 2018).

2.2.3 Sintomatologia

Singh et al. (1990) relatam que os sintomas causados por *M. phaseolina* são caracterizados por lesões de coloração negra, sendo observadas principalmente nos caules e nas raízes das plantas infectadas, podendo evoluir para murcha, tombamento das plantas e até morte precoce. Quando não ocorre a morte, as plantas apresentam murcha, queda das folhas e redução na produtividade. Outros sintomas característicos causados por *M. phaseolina* são a podridão de sementes, de raízes, de colmos e de caules e o tombamento das plantas. Os primeiros sintomas que se manifestam nas plantas são lesões necróticas acinzentadas com pontos pretos, que correspondem aos picnídios. Essas lesões podem se estender por todo caule e raízes, ocasionando a murcha e conseqüentemente o tombamento da planta (KAUR, 2012).

Especificamente no milho, o fungo causa os sintomas no final do ciclo, após a polinização das plantas, principalmente nos tecidos da casca e dos feixes vasculares. A medula é desintegrada, apresentando pontos negros que dão a cor acinzentada à planta, devido à presença de microescleródios (COSTA et al., 2019).

2.2.4 Ciclo da doença

A fonte primária de infecção de *M. phaseolina* são os microescleródios que ficam no solo. Essas estruturas são capazes de infectar as raízes das plantas hospedeiras diretamente na semente durante o plantio, através de hifas que germinam em temperaturas médias de 30-35°C (GUPTA et al., 2012; MARQUEZ et al., 2021).

As células dos microescleródios são induzidas pelos exsudados radiculares e assim podem germinar na superfície das raízes das plantas hospedeiras, formando tubos germinativos que formam os apressórios nas paredes celulares das raízes. Esses apressórios fazem a penetração nas células das plantas

através de pressão mecânica, onde secretam enzimas degradadoras da parede celular (BOWERS et al., 1999; HARTMAN et al., 1999).

No início da infecção nos hospedeiros, as hifas do fungo penetram a epiderme das raízes, restringindo seu crescimento, enquanto as ramificações das hifas colonizam o tecido vascular da planta, inicialmente no córtex e em seguida nos tecidos vasculares do xilema (AMNON et al., 1975). Dessa forma, ao afetar o sistema vascular, impedindo o transporte de água e nutrientes para os tecidos superiores das plantas, causará a murcha da planta. Em condições favoráveis à doença, pode levar à morte prematura da planta, dessa forma, os microescleródios presentes nas raízes e caules são retornados ao solo e podem iniciar outro ciclo da doença (MARQUEZ et al., 2021).

2.2.5 Manejo

Muitas formas de controle de *Macrophomina phaseolina* têm sido estudadas na última década, com diferentes resultados. O uso de fungicidas, por exemplo, não é recomendado para o patógeno, pois não há fungicida sistêmico que se move no sentido da raiz, assim, não existe nenhum produto registrado para o controle do fungo (LOKESH et al., 2020). Ao se tratar de sementes infectadas com *M. phaseolina*, o tratamento químico delas com carbendazin, thiophanato-metyl e captan apresentaram eficiência em eliminar o fungo das sementes, diminuindo a mortalidade das plântulas de soja (GUPTA & CHAUHAN, 2005).

Alguns estudos sugerem que há uma relação entre a densidade do inóculo de *M. phaseolina* no solo e a intensidade da doença, assim como entre a intensidade da doença e a perda de produtividade. Chamorro et al. (2015) mostram que a biossolarização (a combinação de biofumigação e solarização) foi eficaz na redução da quantidade de microescleródios no solo em cultivos de morango, porém, essa prática sozinha não é eficaz no controle do patógeno. Por ser um fungo considerado cosmopolita, ou seja, com ampla gama de hospedeiros e por possuir estruturas de sobrevivência por longo período no solo, a rotação de cultura e o consórcio tornam-se práticas inviáveis no manejo da doença (MARQUEZ et al., 2021).

Estudos recentes de controle biológico com agentes antagonistas têm mostrado resultados positivos no manejo de *M. phaseolina*. Dey et al. (2019) mostram que bactérias como *Klebsiella pneumoniae* HR1 apresentaram atividade antagonista a *Macrophomina*, além de elevar a síntese de enzimas relacionadas à defesa da planta, tornando-se grande potencial como candidatas ao biocontrole do fungo. Além dessa bactéria, outros estudos apontam como potencial espécies pertencentes aos gêneros *Bacillus*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas* e *Serratia genus* e microrganismos degradadores de celulose como *Trichoderma spp.* (BAIRD et al., 2003 ; HUSSAIN & KHAN. 2020 ; KUMAR et al., 2007; MMBAGA et al., 2018; SANJEEVKUMAR et al., 2020; TORRES et al., 2016; VASEBI et al., 2013).

Entre os métodos de manejo da doença, o uso de híbridos resistentes é o mais recomendado, pois além de controlar o patógeno, previne a perda de produtividades e é considerado sustentável e seguro ao meio ambiente (REZNIKOV et al., 2018). Entretanto, até hoje, não há registros de híbridos comerciais resistentes ao fungo, embora tenham sido identificados em estudos alguns genótipos resistentes (COSTA et al., 2020) que podem ser utilizados em programas de melhoramento.

2.3 Resistência genética de plantas aos patógenos

Dentre as medidas realizadas para proteção de plantas aos patógenos, a resistência genética é a mais recomendada, pois além de diminuir os custos aos produtores, também diminui o uso de produtos químicos, protegendo o meio ambiente. Pensando nisso, os atuais programas de melhoramento genético buscam fontes de genes de resistência adequados para o desenvolvimento de cultivares mais resistentes e produtivas. Nesses programas são escolhidos genitores para os cruzamentos de acordo com os genótipos em interesse para o sucesso do programa (THUROW et al., 2018).

A identificação de fontes de resistência às doenças de plantas pode ser feita através da seleção de genótipos resistentes em bancos de germoplasma, espécies silvestres, cultivares elite, mutações e em estudos de herança genética e de identificação de marcadores moleculares para genes de resistência à

doença (NICOLI et al., 2016). Porém, normalmente o melhoramento genético não é muito eficaz quando os patógenos têm vantagens sobre os hospedeiros, por exemplo: mutações e recombinações sexuais ou assexuais podem acontecer, além do rápido ciclo de vida e facilidade no surgimento de novas raças patogênicas. Com isso, a resistência pode não ser durável (SILVA, 2006).

Para obter um híbrido com resistência a determinado patógeno, existem algumas etapas que devem ser seguidas, como: identificação de fontes de resistência; incorporação dessas fontes em híbridos comerciais por meio de métodos utilizados nos programas de melhoramento genético; e delineamento de estratégias para que a resistência seja durável (MICHEREFF, 2001).

2.3.1 Mecanismos de resistência de plantas aos patógenos

Segundo Pascholati (1994), a resistência de um hospedeiro ao parasitismo é definida como a capacidade da planta de atrasar ou de evitar a entrada de um patógeno em seus tecidos. As plantas possuem resistência natural ao ataque de alguns patógenos, baseando-se em barreiras e mecanismos de defesa que caracterizam a resposta imune da planta ao microrganismo que tenta invadir seu sistema, assim como algumas reações bioquímicas que produzem substâncias tóxicas que inibem o desenvolvimento dos patógenos nas plantas (DALLAGNOL & ARAÚJO FILHO, 2018; MATIELLO et al., 1997).

Pesquisadores definem a resistência natural da planta como regra e a suscetibilidade a algum organismo como exceção, sendo esse fenômeno conhecido como resistência de não hospedeiro (RNH), fenômeno caracterizado por mecanismos físicos e bioquímicos que conferem resistência da planta às variantes genéticas de determinada espécie de microrganismo (DALLAGNOL & ARAÚJO FILHO, 2018).

Uma das primeiras barreiras na planta contra algum patógeno é a sua superfície, como a quantidade de cera e cutícula que cobrem a epiderme das células, assim como sua estrutura celular, o tamanho, a forma dos estômatos e a presença de tecidos que impedem o avanço do patógeno. Além das defesas

físicas, as plantas também utilizam a resposta hipersensitiva (HR), resistência sistêmica adquirida (SAR), indução de proteínas relacionadas à patogênese (PR-Proteínas) e alguns compostos sinalizadores (DURBIN, 1998; FERNANDES et al., 2009).

Conforme as características da resistência, elas podem ser classificadas como vertical ou horizontal. A resistência vertical é dada por um ou mais genes, ou seja, monogênica ou oligogênica, e podem apresentar resistência a raças específicas dos patógenos, sendo, por isso, pouco estáveis. Esse tipo de resistência é fácil de ser trabalhada nos programas de melhoramento genético por conta da pouca quantidade de genes, que podem ser transferidos entre os materiais em um simples cruzamento. Entretanto, nesse tipo de resistência, os patógenos têm facilidade em realizar mutações ou recombinações, tornando a resistência pouco durável (MATIELLO et al., 1997; VAN DER PLANK, 1982).

Já a resistência horizontal é característica da interação de vários genes, ou seja, poligênica. Dessa forma, é caracterizada por ser estável e torna-se durável, pois com o uso de genótipos que apresentam vários genes resistentes a certa doença, a probabilidade do patógeno quebrar a resistência é muito baixa (MATIELLO et al., 1997).

REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G. N. Plant disease caused by fungi. *In*: AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. Amsterdam: Elsevier, p. 385-614, 2005.
- AMNON, V.; WYLLIE, T. D.; BROWN, M. F. Investigation of the infection process of *Macrophomina phaseolina* on the surface of soybean roots using scanning electron microscopy. **Mycopathologia**, [s.l.], v. 55, p. 77-81, 1975. DOI: 10.1007/BF00444275.
- ASHBY, S. F. *Macrophomina phaseolina* (Maubl.) Comb. Nov. The pycnidial stage of *Rhizoctonia bataticola* (Taub.). *Butl. Trans. Mycology Society*, [s.l.], v. 12, p. 141-147, 1927. DOI: 10.1016/S0007-1536(27)80008-2. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0007153627800082>. Acesso em: 20 de outubro de 2022.
- BAIRD, R. E.; WATSON, C. E.; SCRUGGS, M. Relative longevity of *Macrophomina phaseolina* and associated mycobiota on residual soybean roots in soil. **Plant Disease**, St. Paul, v. 87, p. 563-566, 2003. DOI: 10.1094/PDIS.2003.87.5.563. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30812959/>. Acesso em: 19 de outubro de 2022.
- BERGSTROM, G. C.; NICHOLSON, R. L. The biology of corn anthracnose. **Plant Disease**, St. Paul, v. 83, n. 7, p. 596-608, 1999. DOI: 10.1094/PDIS.1999.83.7.596. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30845609/>. Acesso em: 14 de outubro de 2022.
- BITANCOURT, A. A. Uma nova doença do feijão. **O biológico**, v. 1, n.2, p. 41, 1935.
- 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, 1981.
- CASA, R. T.; MOREIRA, E. N.; BOGO, A.; SANGOI, L. Incidência de podridões de colmo, grãos ardidos e rendimento de grãos em híbridos de milho submetidos ao aumento na densidade de plantas. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, São Paulo, v. 33, p. 353-357, 2007. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/sp/a/gyxBRy6P8Hw5Y6C5PxXK9tD/?lang=pt>. Acesso em: 14 de outubro de 2022.

CASELA, C. R.; FERREIRA, A. S.; PINTO, N. F. J. A. **Doenças na cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2006. 14 p. (Circular Técnica 83). Disponível em:

<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/490415/1/Circ83.pdf>. Acesso em: 14 de outubro de 2022.

CHAMORRO, M.; DOMÍNGUEZ, P.; MEDINA, J. J.; MIRANDA, L.; SORIA, C.; ROMERO, F. Assessment of chemical and biosolarization treatments for the control of *Macrophomina phaseolina* in strawberries. **Science Horticulture**, [s.], v. 192, p. 361-368, 2015. DOI: 10.1016/j.scienta.201503.029. Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/279804990_Assessment_of_chemical_and_biosolarization_treatments_for_the_control_of_Macrophomina_phaseolina_in_strawberries. Acesso em: 20 de outubro de 2022.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos**, safra 2021/22. 9 ed. n. 12, Brasília, DF: n. 12, Companhia Nacional de Abastecimento, 2022.

CORDA, A. C. I. **Icones fungorum hucusque cognitorum**. Praga: J. G. Calve, v. 1, p. 16-17, 1837.

COSTA, R. V.; CASELA, C. R.; ZAMBOLIM, L.; FERREIRA, A. S. A antracnose do sorgo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p. 345-354, 2003. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/fb/a/bbGWVNBvxSTTRDdRCcsrS7h/?lang=pt>. Acesso em: 14 de outubro de 2022.

COSTA, R. V.; SILVA, D. D.; COTA, L. V.; CAMPOS, L. J. M.; ALMEIDA, A. R. M.; 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 (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 202) 2019. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1117367>. Acesso em: 02 de outubro de 2022.

CROUS, P. W.; SLIPPERS, B.; WINGFIELD, M. J.; RHEEDER, J.; MARASAS, W. F. O.; PHILIPS, A. J. L.; ALVES, A.; BURGESS, T.; PARBER, P.; GROENEWALD, J. Z. Phylogenetic lineages in the Botryosphaeriaceae. **Studies in micology**, [s.l.], v. 55, p. 235-253, 2006. DOI: 10.3114/sim.55.1.235. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2104729/>. Acesso em: 24 de setembro de 2022.

DALLAGNOL, L. J.; FILHO, J. V. A. Uma visão geral da resistência genética da planta a microrganismos. In DALLAGNOL L. J. **Resistência genética de plantas a patógenos**. Pelotas, UFPel, 2018, p.13-64.

DEY, S.; DUTTA, P.; MAJUMDAR, S. Biological Control of *Macrophomina phaseolina* in *Vigna mungo* L. by Endophytic *Klebsiella pneumoniae* HR1. **Jordan Journal of Biological Sciences**, [s.l.], v. 12, n. 2, p. 219-227, 2019. Disponível em: <https://jjbs.hu.edu.jo/files/vol12/n2/Paper%20number%2014.pdf>. Acesso em: 21 de outubro de 2022.

DURBIN, R. D. The mechanisms for self-protection against bacterial phytotoxins. **Annual review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 26, p. 313-329, 1988.

FERNANDES, C. F.; VIEIRA JÚNIOR, J. R.; SILVA, D. S. G.; REIS, N. D.; JÚNIOR, H. A. **Mecanismos de defesa de plantas contra o ataque de agentes fitopatogênicos**. Rondônia: Embrapa Rondônia (Documentos 133), 2009.

Disponível em:

<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/710939/1/133fitopatogenos.pdf>. Acesso em: 25 de outubro de 2022.

FERREIRA, A. S.; CASELA, C. R. **Antracnose do milho (*Colletotrichum graminicola*)**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo (Circular Técnica 13), 2001, p.6. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/30147/1/circ-13.pdf>. Acesso em: 13 de setembro de 2022.

FERREIRA, Cristiane Silva. **Interação diferencial entre *Phaseolus vulgaris* e *Macrophomina phaseolina***. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Goiás, Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Goiânia, 2019. Disponível em:

<https://repositorio.bc.ufg.br/tede/bitstream/tede/9555/5/Disserta%C3%A7%C3%A3o>

[%20-%20Cristiane%20Silva%20Ferreira%20-%202019.pdf](#). Acesso em: 18 de outubro de 2022.

GOIDANCH, G. **A revision of the genus *Macrophomina* Petrak. type species: *M. P. (Tassi)* G. Goid. N. comb. M. P.**, Ashby, v. 3, p. 449-461, 1947.

GUPTA, G. K.; SHARMA, S. K. RAMTEKE, R. Biology, epidemiology and management of the fungus *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid with especial reference to charcoal rot of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). **Journal of phytopathology**, [s.], v. 160, p. 167-180, 2012. DOI: 10.1111/j.1439-0434.01884.x. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1439-0434.2012.01884.x>. Acesso em: 19 de outubro de 2022.

GUPTA, G.K.; CHAUHAN, G. S. Symptoms, identification and management of soybean diseases. **National Research Centre for Soybean**, India, 2005, v. 10, 92 p.

HALSTED, B. D. Some fungous disease of the sweet potato. **Agricultural College Experiment Station Bulletin**, New Jersey, v. 76, p. 1-32, 1890.

HARTMAN, G. L.; SINCLAIR, J. B.; RUPE, J. C. Compendium of soybean diseases. **The American Phytopathological Society**, St. Paul, v. 4, 1999. Disponível em: <https://www.ars.usda.gov/research/publications/publication/?seqNo115=103288>. Acesso em: 29 de agosto de 2022.

HUSSAIN, T.; KHAN, A. A. Determining the antifungal activity and characterization of *Bacillus siamensis* Amu03 against *Macrophomina phaseolina* (Tassi.) Goid. **Indian Phytopathology**, India, v. 73, p. 507-516, 2020. DOI: 10.1007/s42360-020-00239-6. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s42360-020-00239-6#citeas>. Acesso em: 14 de outubro de 2022.

KAUR, S.; GURPEET, S. D.; BRAR, S. K.; VALLAD, G. E.; CHAND, R.; CHAUHAN, V. B. Emerging phytopathogen *Macrophomina phaseolina*: biology, economic importance and current diagnostic trends. **Critical Reviews in Microbiology**, [s.], v. 38, p. 136-151, 2012. DOI: 10.3109/1040841X.2011.640977. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22257260/>. Acesso em: 13 de outubro de 2022.

KUMAR, V.; KUMAR, A.; KHARWAR, R. N. Antagonistic potential of fluorescent pseudomonads and control of charcoal rot of chickpea caused by *Macrophomina*

phaseolina. **Journal of Environment Biology**, India, v. 28, p. 15-20, 2007.

Disponível em: http://www.jeb.co.in/journal_issues/200701_jan07/paper_03.pdf.

Acesso em: 21 de outubro de 2022.

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. Disponível em:

https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1976Articles/Phyto66n05_635.pdf. Acesso em: 28 de setembro de 2022.

LIMA, N. B. **Etiologia e epidemiologia das espécies de *Colletotrichum* relacionadas com a antracnose em frutos de mangueira no nordeste brasileiro**.

2013. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Pernambuco, 2013. Disponível em:

<http://www.tede2.ufrpe.br:8080/tede/bitstream/tede2/6677/2/Nelson%20Bernardi%20Lima.pdf>. Acesso em: 25 de setembro de 2022.

MATIELLO, R. R.; BARBIERI, R. L.; CARVALHO, F. I. F. Resistência das plantas a moléstias fúngicas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 27, n. 1, p. 161-168, 1997.

Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/cr/a/N85YtpPjNNDkqt76kcBPqrN/?lang=pt#:~:text=As%20plantas%20apresentam%20resist%C3%Aancia%20a,e%20com%20resist%C3%Aancia%20%C3%A0s%20mol%C3%A9stias>. Acesso em: 27 de outubro de 2022.

MARQUEZ, N.; GIACHERO, M. L.; DECLERCK, S.; DUCASSE D. A. *Macrophomina phaseolina*: General Characteristics of Pathogenicity and Methods of Control.

Frontiers in Plant Science, v. 12, 2021. DOI: 10.3389/fpls.2021.634397. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2021.634397/full>. Acesso em: 18

de outubro de 2022.

MENEZES, M. **Aspectos biológicos e taxonômicos de espécies do gênero**

Colletotrichum. Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica, Recife, v. 3, p. 170-179, 2006. Disponível em:

<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/34611/1/AAPCA-V3-Revisao-04.pdf>. Acesso em: 20 de setembro de 2022.

MEYER, W. A.; SINCLAIR, J. B.; KHARE, M. N. Factors affecting charcoal rot of soybean seedlings. **Phytopathology**, St. Paul, v. 64, p. 845-849, 1974. DOI: 10.1094/Phyto-64:845-849. Disponível em:

https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1974Articles/Phyto64n06_845.pdf. Acesso em: 19 de outubro de 2022.

MICHEREFF, S. J. **Fundamentos de fitopatologia**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2001, 172 p. Disponível em:

<https://www.bibliotecaagpatea.org.br/agricultura/defesa/livros/FUNDAMENTOS%20DE%20FITOPATOLOGIA.pdf>. Acesso em: 29 de agosto de 2022.

MMBAGA, M. T.; MACKASMIEL, L. M.; MREMA, F. A. Evaluation of biological agents for control of *Macrophomina* root rot and powdery mildew in flowering dogwood (*Cornus florida* L.). **Horticulture Science**, [s.l.], v. 53, p. 1461-1466, 2018. DOI: 10.21273/HORTSCI13071-18. Disponível em:

<https://journals.ashs.org/hortsci/view/journals/hortsci/53/10/article-p1461.xml>. Acesso em: 15 de outubro de 2022.

NICOLI, A.; COSTA, R. V.; COTA, L. V.; SILVA, D. D.; ZAMBOLIM, L.; LANZA, F. E.; GUIMARÃES, D. P.; LANDAU, E. C. Validação de escala diagramática para quantificação da severidade da antracnose do colmo do milho. Defesa Fitossanitária, **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 45, p. 1720-1726, 2015. DOI: 10.1590/0103-8478cr20141510. Disponível em:

<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1028639/1/Validacaoescala.pdf>. Acesso em: 24 de setembro de 2022.

NICOLI, A.; ZAMBOLIM, L.; COSTA, R. V.; GUIMARÃES, L. J. M.; LANZA, F. E.; SILVA, D. D.; COTA, L. V. Identification of sources of resistance to anthracnose stalk rot in maize. Crop Protection, **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 46, n. 11, p. 1885-1890, 2016. DOI: 10.1590/0103-8478cr20151052. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/cr/a/jk5C6Qmw8dCKSgcMhKhV8fG/?lang=en>. Acesso em: 26 de setembro de 2022.

PARREIRA, D. F. **Methods of inoculation and variability of *Colletotrichum graminicola* in corn**. 2012. Tese (Doutorado em Etiologia; Epidemiologia; Controle) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, 2012. Disponível em:

<https://www.locus.ufv.br/handle/123456789/1049>. Acesso em: 22 de setembro de 2022.

PASCHOLATI, S. F. Mecanismos bioquímicos de resistência às doenças. *In*: FERNANDES, J. M.; PRESTES, A. M.; PICININI, E. C. (Ed.). **Revisão anual de patologia de plantas**, Passo Fundo: Revisão anual de patologia de plantas, 1994, v. 2, cap. 1, p. 1-51.

PERFECT, S. E.; HUGHES, H. B.; O'CONNELL, R. J.; GREEN, J. R. *Colletotrichum*: a model genus for studies on pathology and fungal-plant interactions. **Fungal Genetics and Biology**, Orlando, v.27, n. 2-3, p. 186-198, 1999. DOI: 10.1006/fgbi.1999.1143. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10441444/>. Acesso em: 25 de setembro de 2022.

RIBEIRO, N. A.; CASA, R. T.; BOGO, A.; SANGOI, L.; MOREIRA, E. N.; WILLE, L. A. Incidência de podridões do colmo, grãos ardidos e produtividade de grãos de genótipos de milho em diferentes sistemas de manejo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n.5, p. 1003-1009, 2005.

SARR, M. P.; NDIAYE, M.; GROENEWALD, J.; CROUS, P. Genetic diversity in *Macrophomina phaseolina*, the causal agent of charcoal rot. **Phytopathology Mediterranea**, Italy, v. 53, n. 2, p. 250-268, 2014.

SILVA, V. A. **Repostas de cultivares de milho a *Colletotrichum graminicola***. 2006. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, São Paulo, 2006.

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

TORRES, M.J.; BRANDAN, C. P.; PETROSELLI, G.; ERRA-BALSELLS, R.; AUDISIO, M. C. Antagonistic effects of *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* and *B. amyloliquefaciens* against *Macrophomina phaseolina*: SEM study of fungal changes and UV-MALDITOF MS analysis of their bioactive compounds. **Microbiol. Res.**, v. 182, p. 31-39, 2016. DOI: 10.1016/j.micres.2015.09.005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26686611/>. Acesso em: 21 de outubro de 2022.

THUROW, L. B. Melhoramento de plantas visando à resistência a patógenos. *In*: DALLAGNOL L. J. **Resistência genética de plantas a patógenos**. UFPel, Pelotas, 2018, 65-102 p.

REZNIKOV, S.; VELLICCE, G. R.; MENGISTU, A.; ARIAS, R. S.; GONZALEZ, V.; De LISSI, V. Disease incidence of charcoal rot (*Macrophomina phaseolina*) on soybean in north-western Argentina and genetic characteristics of the pathogen. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Canada, v. 40, p. 423-433, 2018.

SANJEEVKUMAR, K.; KUMAR, K. S.; BALABASKAR, P.; SIVAKUMAR, T.; KANNAN, R.; SARAVANAN, K. R. Efficacy of seed plus soil application of *Bacillus cereus* on the root rot (*Macrophomina phaseolina* (Tassi.) Goid.) incidence and plant growth of groundnut. **Plant Arch**, [s.l.] v. 20, p. 1217-1221, 2020.

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.

VAN DER PLANK, J. E. **Host-Pathogen interaction in Plant Disease**. New York: Academic Press, 1982.

VASEBI, Y.; SAFAIE, N.; ALIZADEH, A. Biological controlo f soybean charcoal rot disease using bacterial anf ungal antagonists *in vitro* and greenhouse condition. **Journal of Crop Protection**, [s.l.], v. 2, p. 139-150, 2013.

WARREN, H. L.; NICHOLSON, R. L.; ULLSTRUP, A. J.; SHARVELLE, E. G. Observations of *Colletotrichum graminicola* on sweet corn in Indiana. **Plant Disease**, v. 57, p. 143-144, 1973.

CAPÍTULO II

RESISTÊNCIA DE HÍBRIDOS DE MILHO À PODRIDÃO DE MACROPHOMINA E À ANTRACNOSE DO COLMO EM DOIS AMBIENTES

RESUMO

Os fungos *Macrophomina phaseolina* (podridão de macrophomina) e *Colletotrichum graminicola* (antracnose do colmo) estão entre os principais patógenos que causam podridões de colmo na cultura do milho no Brasil, podendo reduzir sua produtividade consideravelmente. Embora o uso de híbridos resistentes seja a principal estratégia de controle dessas doenças, as informações sobre o nível de resistência de híbridos comerciais aos patógenos são escassas e desatualizadas. Com isso, o objetivo deste trabalho foi caracterizar o nível de resistência de híbridos comerciais de milho às podridões de colmo causadas por *M. phaseolina* e *C. graminicola* em condição de campo. Os experimentos foram conduzidos na área experimental da Embrapa Pesca e Aquicultura, na Fazenda Invernadinha em Paraíso do Tocantins (TO), em dois ambientes com áreas e épocas distintas. O primeiro experimento (ambiente 1) foi semeado em 21/02/2022, em área de Latossolo, onde houve maior disponibilidade hídrica, enquanto o segundo (ambiente 2) foi semeado em 03/03/2022, em área de Plintossolo Pétrico, com menor disponibilidade hídrica. Utilizou-se o delineamento de blocos ao acaso, em arranjo de parcelas subdivididas, fator híbrido nas parcelas e patógenos na subparcela, com três repetições. Avaliou-se a severidade de cada doença no entrenó inoculado, severidade nos entrenós acima do inoculado e percentual de redução de Peso de Matéria Seca Total (PMST) para ambas as doenças. Houve influência da disponibilidade hídrica na severidade de ambas as doenças, no ambiente 1, ocorreu maior agressividade e maior redução no PMST por *C. graminicola*, enquanto no ambiente 2, ocorreu maior redução em PMST e maior agressividade por *M. phaseolina*. Foi observada a colonização de *C. graminicola* em praticamente toda a extensão dos colmos, com variação entre os híbridos, enquanto para *M. phaseolina* os sintomas ficaram restritos ao entrenó inoculado. Para a antracnose do colmo, os híbridos B2801 VYHR, P3707 VYH e 20A44 VIP3 foram resistentes, enquanto os híbridos P3707 VYH, K9606 VIP3, NS88 VIP3 e CRV2654 PRO2 foram resistentes para podridão de macrophomina. Foi observada resistência moderada do híbrido P3707 VYH aos dois patógenos, nos dois ambientes, e suscetibilidade dos híbridos MG580 PW e NK525 VIP3 aos dois patógenos.

Palavras-chave: *Colletotrichum graminicola*; *Macrophomina phaseolina*; resistência genética.

ABSTRACT

RESISTANCE OF MAIZE HYBRIDS TO CHARCOAL ROT AND STEM ANTHRACNOSE IN TWO ENVIRONMENTS

The fungi *Macrophomina phaseolina* (charcoal rot) and *Colletotrichum graminicola* (stem anthracnose) are among the main pathogens that cause stem rot in maize in Brazil, which can reduce its productivity considerably. Although the use of resistant hybrids is the main strategy for controlling these diseases, information on the level of commercial hybrids resistance to these pathogens is scarce and obsolete. Thus, the objective of this work was to characterize the resistance level of commercial corn hybrids to stalk rot caused by *M. phaseolina* and *C. graminicola* under field conditions. The experiments were carried out in the experimental area of Embrapa Pesca e Aquicultura, at Fazenda Invernadinha in Paraíso do Tocantins (TO), in two environments with different areas and times. The first experiment (environment 1) was sown on 02/21/2022, in a Oxisol area, where there was greater water availability according to the water balance calculation, while the second (environment 2) was sown on 03/03/2022, in a Plinth Soil area, with less water availability. A randomized block design was used, in a split-plot arrangement, hybrid factor in the plots and pathogens in the subplot, with three replications. The severity of each disease in the inoculated internode, severity in the internodes above the inoculated one and the percentage of reduction in Total Dry Matter Weight (TDMW) for both diseases were evaluated. There was influence of water availability on the severity of both diseases, in environment 1, there was greater aggressiveness and greater reduction in TDWM by *C. graminicola*, while in environment 2, there was a greater reduction in TDWM and greater aggressiveness by *M. phaseolina*. The colonization of *C. graminicola* was observed in practically the entire length of the stalks, with variation among the hybrids, while for *M. phaseolina* the symptoms were restricted to the inoculated internode. For stem anthracnose, the hybrids B2801 VYHR, P3707 VYH and 20A44 VIP3 were the resistant, while the hybrids P3707 VYH, K9606 VIP3, NS88 VIP3 and CRV2654 PRO2 were the resistant to charcoal rot. Moderate resistance of the hybrid P3707 VYH to the two pathogens was observed in both environments, and susceptibility of the hybrids MG580 PW and NK525 VIP3 to the two pathogens.

Keywords: anthracnose; charcoal rot; resistance; maize hybrids.

1. INTRODUÇÃO

O milho é uma das principais culturas do Brasil, produzida por toda extensão territorial e sob diversas condições climáticas. Apesar dos avanços em área plantada e produção, a cultura é afetada por diversos patógenos que podem causar danos aos grãos, colmos e folhas, resultando na morte prematura das plantas, com consequente redução na produtividade e na qualidade dos grãos (LANZA et al., 2016).

Dentre as doenças que afetam a cultura do milho, as podridões de colmo têm aumentado nas regiões sujeitas à estresses bióticos como em locais com elevadas temperaturas e restrição hídrica. Além disso, a adoção do sistema de plantio direto, sem rotação de cultura, com plantios sucessivos de híbridos suscetíveis, favorece a ocorrência das doenças de colmo como, por exemplo, a antracnose do colmo e a podridão de macrophomina, causadas pelos patógenos necrotróficos *Colletotrichum graminicola* e *Macrophomina phaseolina*, respectivamente (COTA et al., 2012; NICOLI et al., 2015).

Apesar de criar um ambiente favorável a esses patógenos, o sistema de plantio direto é uma ótima alternativa para a conservação dos solos, preservação da sua camada superficial, evitando a perda de nutrientes como nitrogênio, potássio e fósforo, além de reduzir a amplitude térmica e reter água, proporcionando um ambiente benéfico para o desenvolvimento das plantas. Porém, em ambientes com incidência de patógenos de solo e plantio direto, o manejo correto dessas doenças deve ser realizado, a fim de obter altos rendimentos e qualidade de grãos (MEDEIROS et al., 2017).

O controle dessas doenças é dificultado por fatores como a localização dos patógenos na base do colmo e raízes, inviabilizando a aplicação de fungicidas. No caso de *M. phaseolina*, por ser um fungo cosmopolita, ou seja, capaz de infectar várias culturas, dentre as quais, várias economicamente importantes, a rotação de culturas não é uma estratégia viável. Dessa forma, para ambas as doenças recomenda-se o manejo com práticas integradas, adotando medidas como o uso de adubação equilibrada, densidade de plantas adequada, tratamento de sementes e principalmente o uso de híbridos resistentes (COSTA et al., 2008; PORTO et al., 2016).

A partir disso, o objetivo deste trabalho é caracterizar o nível de resistência de híbridos comerciais de milho às podridões de colmo causadas por *Macrophomina phaseolina* e *Colletotrichum graminicola* em condição de campo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Localização e descrição da área experimental

Os experimentos foram conduzidos em condições de campo, na área experimental da Embrapa Pesca e Aquicultura, na Fazenda Invernadinha, coordenadas geográficas 10°11'09"S e 48°41'12"W, município de Paraíso do Tocantins (TO), em duas áreas e em épocas distintas de semeadura.

O primeiro experimento foi semeado no dia 21/02/2022 em uma área com solo classificado como Latossolo Vermelho-Amarelo distrófico petroplúntico. O segundo experimento, no dia 03/03/2022, em área com solo do tipo Plintossolo pétrico concrecionário típico, de acordo com o Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. O clima da região é do tipo Aw, clima tropical de verão úmido e inverno seco, de acordo com Köppen e Geiger (1928).

A semeadura foi realizada em sistema de plantio direto, com semeadora de parcela experimental a vácuo, com 400 kg.ha⁻¹ de 15-15-15 na adubação de base e 187 kg.ha⁻¹ de 32-00-00 em cobertura na fase V4 (quatro folhas completamente expandidas). As demais práticas culturais, como manejo de pragas e de plantas daninhas, foram realizadas seguindo o padrão da propriedade, visando a obtenção de altas produtividades.

2.2 Delineamento experimental

Foi utilizado o delineamento experimental de blocos ao acaso, em arranjo de parcela subdividida (fator híbrido nas parcelas e fungos nas subparcelas), com três repetições. Cada parcela foi constituída por quatro linhas de cinco metros de comprimento, espaçadas em 0,5 m entre linhas e densidade média de 60.000 plantas ha⁻¹. As duas linhas centrais foram consideradas como área útil das parcelas e as duas linhas laterais como as bordaduras.

As parcelas foram compostas por trinta híbridos comerciais de milho, descritos na Tabela 1. As subparcelas foram compostas pelos fungos *Colletotrichum graminicola* e *Macrophomina phaseolina*, onde foram realizadas

as inoculações. Na linha da esquerda, foram inoculadas cinco plantas com *C. graminicola* e na linha da direita, cinco plantas com *M. phaseolina*. Para as testemunhas, três plantas foram inoculadas com um palito estéril em cada linha.

Tabela 1. Híbridos de milho utilizados nos experimentos de fenotipagem para resistência a antracnose do colmo (*C. graminicola*) e podridão de macrofomina (*M. phaseolina*). Fazenda Invernadinha, Paraíso do Tocantins, Tocantins, 2022.

Híbridos	Ciclo	Transgenia
20A38 VIP3	Precoce	Transgênico
20A44 VIP3	Precoce	Transgênico
3500 RR2	Precoce	Transgênico
AG8065 PRO3	Precoce	Transgênico
AG8480 PRO4	Precoce	Transgênico
AS1820 PRO3	Precoce	Transgênico
AS1822 PRO3	Precoce	Transgênico
B2782 PWU	Precoce	Transgênico
B2801 VYHR	Precoce	Transgênico
BM880 PRO3	Superprecoces	Transgênico
BM990 VIP3	Precoce	Transgênico
CRV2654 PRO2	Precoce	Transgênico
CRV2738 VIP3	Precoce	Transgênico
FS670 PWU	Precoce	Transgênico
FS700 PWU	Precoce	Transgênico
FS715 PWU	Precoce	Transgênico
GNZ7720 VIP3	Precoce	Transgênico
GNZ7788 VIP3	Precoce	Transgênico
K7510 VIP3	Precoce	Transgênico
K9606 VIP3	Precoce	Transgênico
MG580 PW	Precoce	Transgênico
NK525 VIP3	Precoce	Transgênico
NK520 VIP3	Precoce	Transgênico
NK508	Precoce	Convencional
NS75 VIP3	Precoce	Transgênico
NS80 VIP3	Precoce	Transgênico
NS88 VIP3	Precoce	Transgênico
P3707 VYH	Precoce	Transgênico
P3898	Precoce	Convencional
SHS7940 PRO3	Precoce	Transgênico

Fonte: A autora.

2.3 Isolamento e manutenção dos inóculos

O isolado *M. phaseolina* foi obtido na coleção de fungos fitopatogênicos da Embrapa Pesca e Aquicultura. Pequenos fragmentos do tecido vascular de colmos infectados foram desinfetados superficialmente por imersão em álcool 70%, por um minuto, mergulhados, em seguida, em hipoclorito de sódio a 2%, também por um minuto e, por fim, lavados em água esterilizada. Após o processo de desinfecção, os fragmentos de colmo foram transferidos para placas de Petri, com meio de cultura BDA (Ágar Batata Dextrose) e sob condições assépticas.

O isolado de *C. graminicola* foi proveniente da coleção de fungos fitopatogênicos da Embrapa Milho e Sorgo. Para a produção do inóculo, o isolado foi repicado para placas com meio de farinha de aveia (60 g de farinha de aveia, 15 g de ágar, 1000 mL de água). Após 5 dias de crescimento das colônias, realizou-se a raspagem superficial do micélio a fim de induzir a esporulação do fungo (COTA et al., 2010).

As placas de Petri com os fungos foram mantidas em câmara de crescimento do tipo BOD, em temperatura ajustada para $28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, no escuro e com fotoperíodo de 12 horas luz e 12 horas escuro, para *Macrophomina phaseolina* e *Colletotrichum graminicola*, respectivamente, até o momento do preparo para as inoculações.

2.4 Inoculação dos patógenos

As inoculações foram realizadas aos 50 dias após o plantio, aproximadamente no estágio V9 a V10 (nove e dez folhas completamente expandidas).

Para a inoculação com *M. phaseolina*, utilizou-se o método do palito colonizado pelo fungo (MIHAIL, 1992). Para isso, os palitos foram previamente fervidos por duas vezes em água deionizada para a eliminação de resíduos químicos, sendo trocada a água nas duas fervuras. Em seguida, foram colocados em béquer e autoclavados a $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ e 1 kgf/cm^2 por 20 minutos. O isolado desse fungo foi repicado para béquer de 250 mL contendo meio BDA e, após 7 dias, os

palitos estéreis foram acondicionados nos frascos. Os recipientes foram fechados com papel alumínio e fita parafilm e mantidos na câmara de crescimento até o momento das inoculações (Figura 1).

Figura 1. Metodologia utilizada para a inoculação artificial de *Macrophomina phaseolina*: béquer com isolado do patógeno e palitos colonizados pelo fungo.



Fonte: A autora.

Para inoculação com *C. graminicola* foi utilizado o método do palito imerso na suspensão de esporos, de acordo com Cota et al. (2012). Placas contendo colônias esporuladas foram inundadas com água deionizada estéril e raspadas superficialmente para a liberação dos esporos. A suspensão de esporos obtidas foi ajustada para a concentração de 10^6 conídios mL^{-1} , utilizando a Câmara de Neubauer para a contagem (MATIELLO et al., 2012). Em seguida, a suspensão obtida foi colocada em béquer de 10 mL, para acondicionamento dos palitos estéreis (Figura 2).

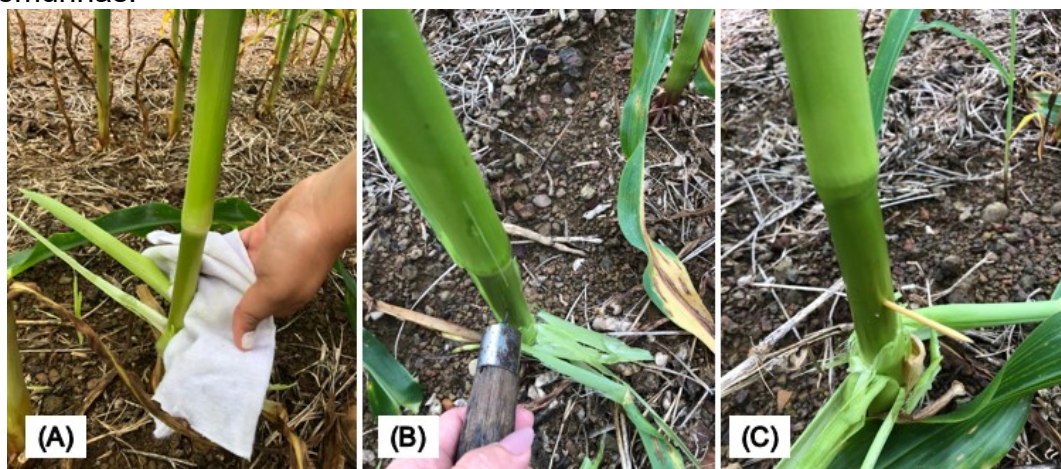
Figura 2. Método utilizado para a inoculação artificial de *Colletotrichum graminicola*, através do uso de palitos mergulhados na suspensão de esporos na concentração de 10^6 mL⁻¹.



Fonte: A autora.

Foram inoculadas cinco plantas com cada fungo, seguindo a metodologia descrita por Costa et al. (2010a): foram retiradas as folhas e bainhas do segundo entrenó da base do colmo; em seguida, foi realizada a desinfestação superficial com pano umedecido em álcool 70%; os colmos foram perfurados com o auxílio de um perfurador manual desinfetado com álcool 70% e fogo; na sequência, os palitos colonizados por macrofomina e os mergulhados na suspensão de *C. graminicola* foram inseridos (Figura 3). Em cada parcela, três plantas foram mantidas como tratamento controle, sendo perfuradas e inseridas com palitos estéreis e sem inóculo dos patógenos. Os palitos permaneceram inseridos no colmo até o momento das avaliações, realizadas aos 30 e aos 50 dias após a inoculação para *C. graminicola* e *M. phaseolina*, respectivamente.

Figura 3. (A) Desinfecção superficial do colmo com pano umedecido com álcool 70%, (B) perfuração dos colmos com perfurador manual para inserção dos palitos, (C) inserção dos palitos colonizados com os patógenos e as testemunhas.



Fonte: A autora.

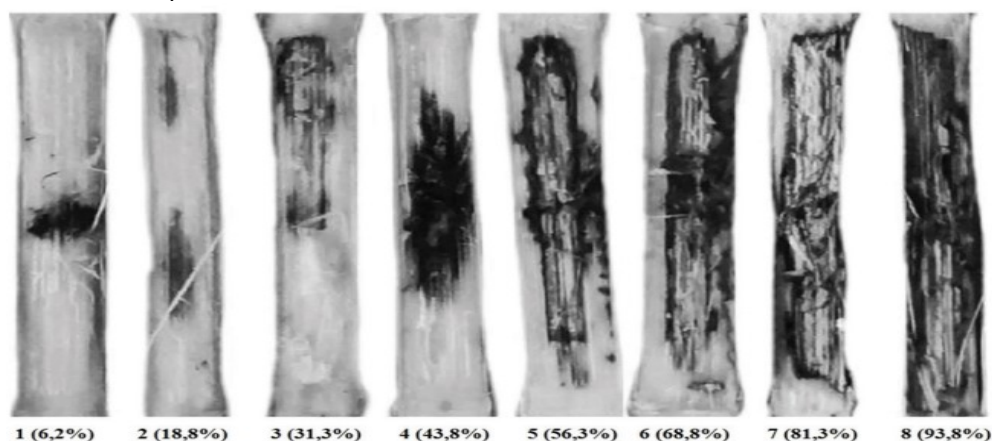
2.5 Avaliações

As avaliações da severidade das lesões *C. graminicola* foram realizadas aos 30 dias após as inoculações, conforme a metodologia proposta por Cota et al. (2010). Já as plantas inoculadas com *M. phaseolina* foram avaliadas aos 50 dias após a inoculação. Para as avaliações, todos os colmos das plantas inoculadas e das testemunhas foram cortados entre o entrenó da base e o entrenó de inserção da espiga e levados ao laboratório de Fitopatologia do Núcleo de Sistemas Agrícolas da Embrapa Pesca e Aquicultura, em Palmas, Tocantins, para as avaliações de severidade. Os colmos foram cortados longitudinalmente para avaliação da extensão das lesões e da severidade, conforme a escala diagramática proposta por Nicoli et al. (2015) (Figura 4).

Para as plantas inoculadas com *C. graminicola*, a avaliação de severidade da doença foi feita para cinco entrenós acima do inoculado, uma vez que foi observada a colonização do fungo por praticamente toda a extensão do colmo. Para *M. phaseolina*, a avaliação de severidade concentrou-se apenas no entrenó inoculado em praticamente todos os colmos, em virtude do tipo de colonização do patógeno que se mantém no local de inoculação.

Durante a coleta das plantas nas áreas experimentais, selecionaram-se três híbridos (NK508, BM880 PRO3 e FS700 PWU), de forma aleatória, para realizar a avaliação de redução do Peso Total de Matéria Seca (PMST). Todas as folhas e as espigas das plantas inoculadas e das testemunhas foram retiradas e colocadas em sacos de ráfias identificados e levados à unidade da Embrapa Pesca e Aquicultura, em Palmas, Tocantins, para secagem em estufa a 65°C por cinco dias. Após a secagem, as amostras foram pesadas para obtenção do peso total e, em seguida, calculou-se a porcentagem de redução do peso das amostras inoculadas em comparação com as testemunhas, obtendo a porcentagem de redução de PMST.

Figura 4. Escala diagramática utilizada na avaliação da severidade das podridões de colmo causadas por *Colletotrichum graminicola* e *Macrophomina phaseolina* (Nicoli et al., 2015).



Fonte: Nicoli et al. (2015).

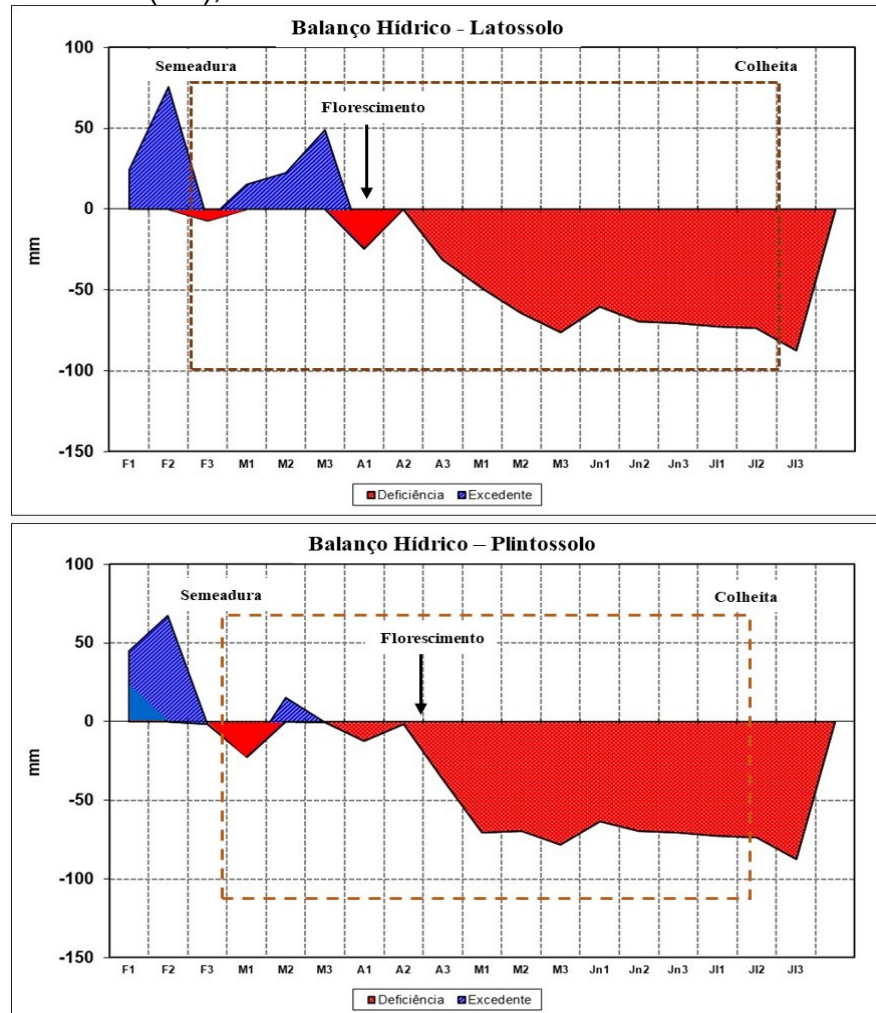
2.6 Balanço hídrico

Os dados de temperatura máxima, média e mínima e de precipitação pluviométrica para as duas áreas foram obtidos na estação meteorológica localizada na área experimental, para cálculo da Evapotranspiração Potencial (ET₀), conforme o método de Penman-Monteith.

Com os dados de temperatura, precipitação e ET₀, elaboraram-se os balanços hídricos dos dois experimentos (Figura 5), utilizando o método proposto por Thornthwaite & Mather (1955) e Camargo (1962). A Capacidade Máxima de Armazenamento de água no solo (CAD), utilizada para elaboração

dos balanços hídricos, foi de 27,55 mm para o ambiente de Plintossolo Pétrico e de 72 mm para o ambiente de Latossolo.

Figura 5. Balanço hídrico avaliado a cada 10 dias, de fevereiro a julho de 2022 no Ambiente I (Latossolo) e no Ambiente II (Plintossolo). Fazenda Invernadinha, Paraíso do Tocantins (TO), 2022.



2.7 Análise estatística

Os dados de severidade das doenças foram submetidos à análise de variância conjunta (dois ambientes), utilizando os softwares estatísticos R (R CORE TEAM, 2022), com scripts desenvolvidos no pacote ExpDes.pt (FERREIRA et al., 2013) e Sisvar 5.0 (FERREIRA, 2011). Os valores de F foram considerados significativos ao nível de significância de 5% ($P < 0,05$). As médias de cada tratamento foram comparadas entre si utilizando o teste de Scott-Knott, ao nível de 5% de significância.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os híbridos avaliados expressaram sintomas causados por *C. graminicola* e *M. phaseolina*, com diferentes graus de severidade para cada fungo e ambiente. Foi observada interação tripla significativa entre os fatores fungos, híbridos e ambientes para as variáveis severidade no entrenó inoculado, severidade nos entrenós acima do inoculado e para número de *entrenós colonizados* (Tabela 2).

Tabela 2. Resumo da análise de variância conjunta para a severidade da podridão de macrofomina (*Macrophomina phaseolina*) e antracnose do colmo (*Colletotrichum graminicola*) em híbridos de milho, em experimentos conduzidos em duas áreas na segunda safra. Fazenda Invernadinha, Paraíso do Tocantins (TO), 2022.

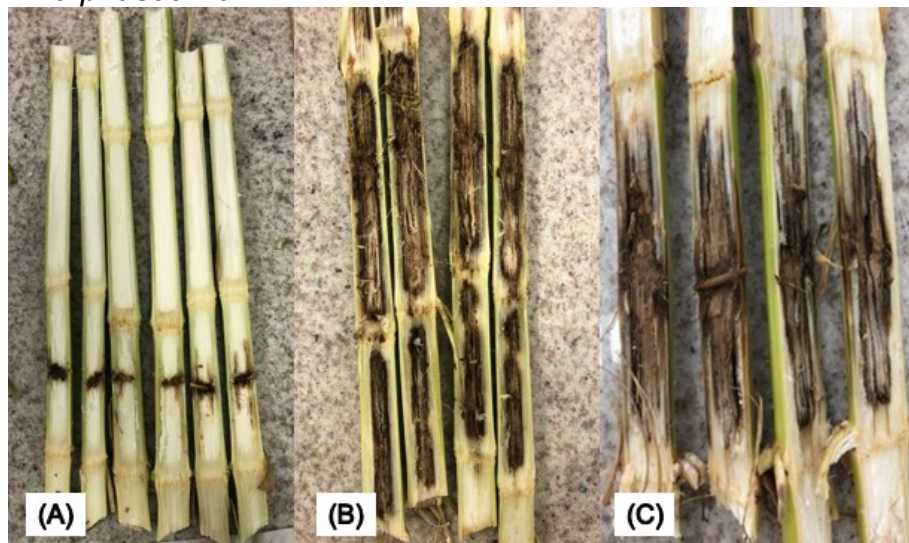
Fonte de Variação	GL	QM		
		Severidade no entrenó inoculado	Severidade nos entrenós acima do inoculado*	Número de entrenós colonizados*
Bloco (Ambiente)	4	74,56**	3,5 ^{ns}	0,43 ^{ns}
Híbridos (H)	29	2355,95**	1564,70**	13,38**
Fungos (F)	1	3828,87**	-	-
Ambiente (A)	1	6089,95**	98463,01**	584,64**
H*F	29	1043,56**	-	-
H*A	29	607,26**	1112,06**	7,07**
F*A	1	54969,12**	-	-
H*F*A	29	460,85**	-	-
Erro	120	34,94	8,7	0,2
CV (%)		11,22	14,62	12,98
Média Geral		52,7	29,00	3,5

* Apenas para o patógeno *Colletotrichum graminicola*; ** $P \leq 0,05$; ^{ns} Não significativo.

Fonte: A autora.

Os métodos de inoculação utilizados para cada fungo foram eficientes para o desenvolvimento das doenças e dos respectivos sintomas (Figura 6), o que permitiu caracterizar a reação de resistência e suscetibilidade dos trinta híbridos avaliados para cada doença.

Figura 6. (A) Testemunhas inoculadas com palito estéril; (B) Sintomas da antracnose em colmo de milho inoculado com *Colletotrichum graminicola*; (C) Sintomas da podridão de Macrophomina em colmo de milho inoculado com *Macrophomina phaseolina*.



Fonte: A autora.

O ambiente 1, caracterizado por Latossolo, com maior teor de argila, portanto maior capacidade de retenção de água, foi utilizado para a semeadura dos híbridos em fevereiro, considerada como mais cedo na janela de cultivo do milho segunda safra na região. O ambiente 2, caracterizado por Plintossolo, com maior presença de cascalho e menor retenção de água, foi utilizado para a semeadura tardia dos híbridos, no início do mês de março, período considerado de maior risco para o cultivo do milho segunda safra na região. Pelas características do tipo de solo e época de semeadura, o ambiente 1 foi definido como o de maior disponibilidade hídrica e o ambiente 2 como o de maior restrição hídrica (Figura 5).

Considerando-se os ambientes, a severidade da antracnose do colmo, no entrenó inoculado, foi significativamente maior no ambiente 1 (65,90%) do que no ambiente 2 (32,96%). Resultado inverso foi observado para a podridão de macrophomina, cujas médias de severidade foram de 47,71 e 64,38% nos ambientes 1 e 2, respectivamente (Tabela 3).

Tabela 3. Severidade da antracnose do colmo (*Colletotrichum graminicola*) e da podridão de macrofomina (*Macrophomina phaseolina*) inoculados nos colmos dos híbridos de milho em dois ambientes em experimento de campo. Fazenda Invernadinha, Paraíso do Tocantins (TO), 2022.

Híbrido	Ambiente 1		Ambiente 2	
	Antracnose do colmo	Podridão de Macrofomina	Antracnose do colmo	Podridão de Macrofomina
P3898	6,62 Aa	62,9 Eb	15,42 Aa	61,5 Cb
B2801 VYHR	9,13 Aa	61,5 Eb	13,7 Aa	79,21 Eb
P3707 VYH	11,43 Aa	33,14 Cb	17,55 Aa	42,12 Bb
20A44 VIP3	28,4 Ba	22,5 Ba	23,1 Ba	66,1 Db
NK525 VIP3	35,68 Bb	25,73 Ba	8 Aa	68,59 Db
B2782 PWU	45,06 Ca	57,16 Da	35,93 Ca	57,54 Cb
NS88 VIP3	61,71 Db	32,34 Ca	14,03 Aa	23,02 Aa
FS670 PWU	62,55 Db	38,59 Ca	11,45 Aa	66,3 Db
NS75 VIP3	67,55 Db	26,7 Ba	26,16 Ba	50,67 Bb
20A38 VIP3	70,46 Eb	25,9 Ba	41,46 Da	55,05 Cb
NK520 VIP3	72,13 Eb	52,13 Da	27,42 Ba	81,3 Eb
K9606 VIP3	73,11 Eb	37,05 Ca	15,79 Aa	20,88 Aa
CRV2654 PRO2	73,63 Eb	36,7 Ca	12,9 Aa	29,46 Aa
NS80 VIP3	73,8 Eb	40,6 Ca	15,53 Aa	65,32 Db
MG580 PW	74,21 Eb	73,9 Fb	66,48 Fb	74,63 Eb
CRV2738 VIP3	74,63 Eb	47,73 Da	20,68 Aa	68,8 Db
GNZ7788 VIP3	76,3 Fb	14,78 Aa	39,97 Da	49,79 Ba
FS700 PWU	77,13 Fb	45,88 Da	28,73 Ba	66,71 Db
NK508	77,96 Fb	66,71 Ea	69,57 Fa	82,13 Eb
GNZ7720 VIP3	78,16 Fb	71,91 Fa	14,01 Aa	56,3 Cb
FS715 PWU	78,59 Fb	51,77 Da	70,41 Fb	79,21 Db
AG8480 PRO4	78,83 Fb	67,31 Ea	26 Ba	80,88 Eb
BM880 PRO3	80,06 Fb	40,1 Ca	34,82 Ca	65,46 Db
BM990 VIP3	80,88 Fb	49,32 Da	36,2 Ca	70,05 Db
AS1832 PRO3	82,13 Fb	55,9 Da	47,93 Da	74,73 Eb
SHS7940 PRO3	82,13 Fb	75,74 Eb	47,78 Da	79,21 Eb
K7510 VIP3	82,33 Fb	54,23 Da	59,41 Ea	87,34 Eb
3500 RR2	83,36 Fb	49,16 Da	50,26 Da	78,38 Eb
AG8065 PRO3	87,96 Fb	54,66 Da	42,16 Da	79,21 Eb
AS1820 PRO3	91,3 Fb	59,43 Da	56,2 Ea	71,71 Db
Médias	65,9	47,71	32,96	64,38

Médias seguidas de mesmas letras maiúsculas na coluna e minúsculas na linha não diferem entre si pelo teste Scott Knott, ao nível de significância de 5%.

Fonte: A autora.

No ambiente de maior umidade no solo (ambiente 1), apenas 16,6% dos híbridos compuseram o grupo dos mais resistentes à antracnose (grupos A e B, Tabela 3), enquanto no ambiente de maior déficit hídrico, o grupo dos mais

resistentes foi composto por 53,3% dos híbridos (Tabela 3). Por outro lado, a porcentagem de híbridos nos grupos de maior suscetibilidade à antracnose (grupos E e F) foi de 70 e 16,6% nos ambientes 1 e 2, respectivamente. Para podridão de macrophomina as porcentagens de híbridos nos grupos mais resistentes (A e B) foi de 16,6 e 20% nos ambientes 1 e 2, respectivamente. Nos grupos dos mais suscetíveis (E e F), a proporção de híbridos nos ambientes 1 e 2 foi de 23,3 e 36,6%.

Embora a diferença do número de híbridos nos grupos de menor e maior suscetibilidade, em ambos os ambientes, tenha sido menor para podridão de macrophomina comparada à resposta para antracnose do colmo, a severidade das doenças nos tecidos do colmo apresentou comportamento similar e inversamente proporcional nos ambientes. A menor severidade para antracnose foi de 6,62 e 8,0% nos ambientes 1 e 2, e as maiores severidades nos mesmos ambientes foi de 91,3 e 70,4, respectivamente. No ambiente 1, apenas 20% dos híbridos apresentaram severidade da antracnose do colmo inferior a 50%, enquanto no ambiente 2, esse valor foi de 80%. Para podridão de macrophomina, as menores severidades foram de 14,78% (GNZ7788 VIP3) e 20,88% (K9606 VIP3) nos ambientes 1 e 2, respectivamente, enquanto as maiores severidades foram de 75,74% (SHS7940 PRO3) e 87,34% (K7510 VIP3). No ambiente 1, 53,3% dos híbridos apresentaram severidade da podridão de macrophomina inferior a 50% e de apenas 16,6% no ambiente 2.

No ambiente 1, os híbridos foram classificados em seis grupos quanto à severidade da antracnose do colmo no entrenó inoculado. Os híbridos P3898, B2801 VYHR e P3707 VYH formaram o grupo dos híbridos resistentes, seguidos dos híbridos 20A44 VIP3 e NK525 VIP3. As maiores suscetibilidades foram obtidas pelos híbridos AG8065 PRO3 e AS1820 PRO3. Os demais híbridos apresentaram reações intermediárias (Tabela 3). No ambiente 2, seis grupos foram formados quanto à severidade da doença. O grupo de híbridos resistentes ao patógeno foi formado pelos híbridos P3898, B2801 VYHR, P3707 VYH, NK525 VIP3, NS88 VIP3, FS670 PWU, K9606 VIP3, CRV2654 PRO2, NS80 VIP3, CRV2738 VIP3 e GNZ7720 VIP3. Os híbridos suscetíveis à doença no ambiente 2 foram MG580 PW, NK508 e FS715 PWU (Tabela 3).

Para severidade da podridão de macrofomina, foi possível classificar os híbridos em seis grupos no ambiente 1. O híbrido mais resistente foi o GNZ7788 VIP3, seguido pelo grupo dos híbridos 20A44 VIP3, NK525 VIP3, NS75 VIP3 e 20A38 VIP3. Os híbridos MG580 PW e GNZ7720 VIP3 foram mais suscetíveis (Tabela 3). No ambiente 2, os híbridos mais resistentes à podridão de macrofomina foram K9606 VIP3, NS88 VIP3 e CRV2654 PRO2, seguidos pelos híbridos P3707 VYH, NS75 VIP3 e GNZ7788 VIP3, enquanto os híbridos mais suscetíveis foram B2801 VYHR, NK520 VIP3, MG580 PW, NK508, AG8480 PRO4, AS1832 PRO3, SHS7940 PRO3, K7510 VIP3, 3500RR2 e AG8065 PRO3 (Tabela 3). Foi observada resistência moderada aos dois patógenos apenas no híbrido P3707 VYH, nos dois ambientes, e suscetibilidade dos híbridos MG580 PW e NK525 VIP3 (Tabela 3).

Nos colmos inoculados com *C. graminicola*, os sintomas foram observados em praticamente todos os entrenós dos colmos, havendo variações entre os híbridos. Houve diferença significativa entre os híbridos quanto à severidade média nos cinco entrenós acima do inoculado com *C. graminicola* (Tabela 2). Nos colmos avaliados para *M. phaseolina*, os sintomas ficaram restritos apenas ao entrenó inoculado para a maioria dos híbridos (Tabela 4).

Os híbridos P3707 VYH, B2801 VYH, P3898, FS670 PWU e NK525 VIP3 apresentaram maior capacidade de restringir a colonização sistêmica de *C. graminicola*, cujas médias nos entrenós superiores ao inoculado foram menores que 5%. Os híbridos AS1820 PRO3, NK508 e K7510 VIP3 apresentaram maior severidade da doença nos entrenós acima do inoculado, 78,81%, 76,99% e 77,3%, respectivamente (Tabela 4).

Tabela 4. Médias de severidade de Antracnose (*Colletotrichum graminicola*) e de Podridão de Macrophomina (*Macrophomina phaseolina*) nos entrenós acima do inoculado e número total de entrenós colonizados pelos patógenos nos dois ambientes. Fazenda Invernadinha, Paraíso do Tocantins (TO), 2022.

Híbrido	Ambiente 1			Ambiente 2		
	Antracnose do colmo		Podridão de Macrophomina	Antracnose do colmo		Podridão de Macrophomina
	Severidade nos entrenós acima do inoculado	Nº de entrenós colonizados	Nº de entrenós colonizados	Severidade nos entrenós acima do inoculado	Nº de entrenós colonizados	Nº de entrenós colonizados
P3707 VYH	0,1 A	1,00 A	1,00 A	0,10 A	1,00 A	1,00 A
B2801 VYHR	0,1 A	1,00 A	1,00 A	0,10 A	1,00 A	1,00 A
P3898	0,56 A	1,16 A	1,00 A	0,10 A	1,00 A	1,00 A
NK525 VIP3	2,72 A	1,60 B	1,00 A	6,20 A	1,00 A	1,00 A
FS670 PWU	3,87 A	2,01 B	1,00 A	0,10 A	1,00 A	1,00 A
NS75 VIP3	15,71 B	1,86 B	1,00 A	0,10 A	1,00 A	1,00 A
20A44 VIP3	20,15 B	3,73 D	1,00 A	3,12 A	1,20 A	1,00 A
CRV2654 PRO2	29,14 C	2,93 C	1,00 A	0,10 A	1,00 A	1,00 A
NS80 VIP3	41,77 D	3,43 C	1,00 A	5,76 A	1,66 A	1,00 A
B2782 PWU	49,65 E	4,10 D	1,00 A	0,10 A	1,00 A	1,00 A
K9606 VIP3	55,67 F	6,00 F	1,00 A	0,30 A	1,00 A	1,00 A
NK520 VIP3	55,67 F	5,00 E	1,00 A	0,10 A	1,00 A	1,00 A
BM880 PRO3	57,7 F	6,26 F	1,00 A	23,87 C	3,60 C	1,00 A
GNZ7788 VIP3	57,93 F	6,20 F	1,00 A	10,90 B	2,60 B	1,00 A
NS88 VIP3	59,37 F	4,86 E	1,00 A	0,10 A	1,00 A	1,00 A
20A38 VIP3	63,15 G	6,53 F	1,06 A	25,78 C	4,20 C	1,00 A
AG8065 PRO3	64,88 G	6,06 F	1,00 A	0,30 A	1,03 A	1,00 A
3500RR2	68,81 H	5,60 E	1,06 A	3,35 A	1,33 A	1,00 A
FS715 PWU	73,72 H	6,65 F	1,00 A	11,75 B	4,43 C	1,00 A
CRV2738 VIP3	75,05 H	7,96 G	1,03 A	0,33 A	1,06 A	1,00 A
FS700 PWU	75,53 H	7,26 G	1,00 A	9,62 B	2,40 B	1,00 A
AS1832 PRO3	76,3 H	7,60 G	1,03 A	9,31 B	2,30 B	1,00 A
NK508	76,99 H	7,86 G	1,00 A	0,10 A	1,00 A	1,00 A
K7510 VIP3	77,13 H	7,53 G	1,00 A	23,32 C	2,63 B	1,00 A
AG8480 PRO4	77,42 H	7,53 G	1,00 A	0,10 A	1,00 A	1,00 A
MG580 PW	77,55 H	7,13 G	1,00 A	2,74 A	1,70 A	1,00 A
BM990 VIP3	77,97 H	7,70 G	1,03 A	0,10 A	1,00 A	1,00 A
SHS7940 PRO3	78,06 H	7,13 G	1,00 A	12,32 B	2,80 B	1,00 A
AS1820 PRO3	78,81 H	8,00 G	1,00 A	18,10 C	2,93 B	1,00 A
GNZ7720 VIP3	79,74 H	7,30 G	1,10 A	0,10 A	1,00 A	1,00 A
Médias	52,39	5,30	1,01	5,61	1,69	1,00

Médias seguidas de mesmas letras maiúsculas na coluna não diferem entre si pelo teste Scott Knott, ao nível de significância de 5%.
Fonte: A autora.

Em ambos os ambientes, a diferença em redução de Peso da Matéria Seca (PMST) para os fungos foi estatisticamente significativa (Tabela 5). Para os dois fungos, foi observada redução no PMST em plantas inoculadas quando comparadas a plantas sadias (testemunha). Para antracnose, a redução de

PMST foi de, aproximadamente, entre 31 e 20%, nos ambientes 1 e 2, respectivamente. Para os híbridos inoculados com *M. phaseolina*, a redução nos dois ambientes foi de 14,3 e 25,9%, respectivamente (Figura 7).

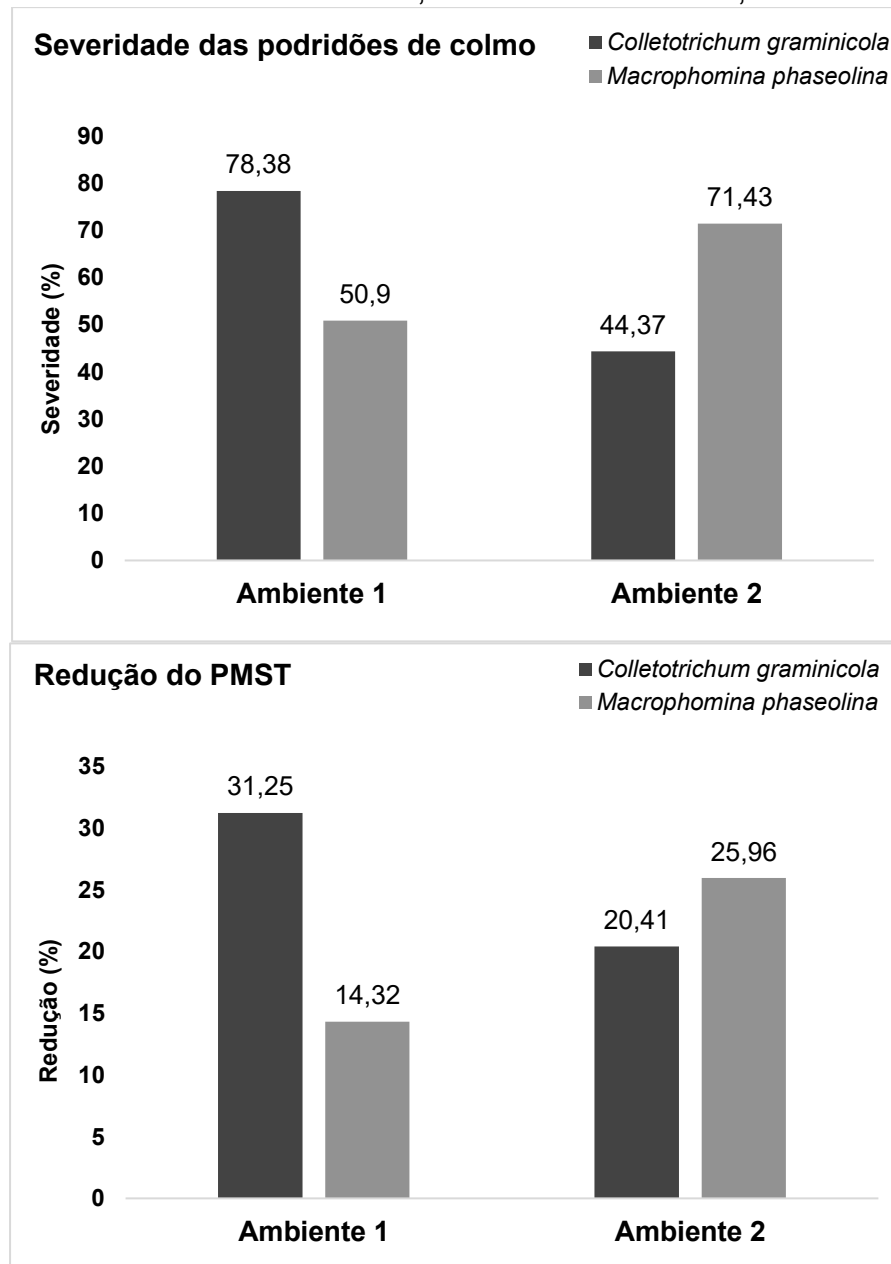
Tabela 5. Resumo da análise de variância conjunta para a redução de Peso de Matéria Seca Total (PMST) e severidade das podridões de colmo (*Macrophomina phaseolina* e *Colletotrichum graminicola*) em híbridos de milho, em experimentos conduzidos em dois ambientes na safrinha. Fazenda Invernadinha, Paraíso do Tocantins (TO), 2022.

Fonte de Variação	GL	QM	
		Redução de PMST	Severidade das podridões de colmo
Bloco (Ambiente)	4	9,37 ^{ns}	29,34 ^{ns}
Híbridos (H)	29	122,64**	1479,98**
Fungos (F)	1	291,271**	0,40 ^{ns}
Ambiente (A)	1	1,44 ^{ns}	408,64**
H*F	29	272,35**	50,03ns
H*A	29	35,29**	247,40**
F*A	1	1137,93**	6695,33**
H*F*A	29	35,49**	531,76**
Erro	120	58,77	60,48
CV (%)		9,63	12,69
Média Geral		22,98	61,27

** P ≤ 0,05; ^{ns} Não significativo. Fonte: A autora.

A redução de PMST seguiu a mesma tendência observada para a severidade das doenças em ambos os ambientes. Assim como no estudo de severidade das doenças, a maior severidade da antracnose foi observada no ambiente 1, onde houve maior umidade no solo (78,38%), enquanto a podridão de *macrophomina* apresentou maior severidade no ambiente 2, o de maior restrição hídrica (71,41%). No ambiente 1, a redução de PMST para as podridões de antracnose e de *macrophomina* foram de 29,9 e 23,6%, respectivamente. No ambiente 2, resultado inverso foi observado para os fungos, sendo 13,6 e 17,1% para antracnose e podridão de *macrophomina* (Figura 7).

Figura 7. Porcentagem de severidade das podridões de colmo causadas por *Colletotrichum graminicola* e *Macrophomina phaseolina* e redução no Peso de Matéria Seca Total (PMST) para os dois fungos, nos dois ambientes experimentais. Fazenda Invernadinha, Paraíso do Tocantins, Tocantins, 2022.



Fonte: A autora.

O comportamento de *C. graminicola* e *M. phaseolina* nos ambientes avaliados reforça resultados obtidos em outros trabalhos na literatura (COSTA et al., 2019; COSTA et al., 2020; ISHIKAWA et al., 2018; MATIELLO, 2013; LIMA et al., 2021). Nesta pesquisa, o período de maior deficiência hídrica ocorreu a partir do final de março em área de Plintossolo (ambiente 2) (Figura 5), situação em que foram observadas as maiores severidades de podridão de macrofomina.

De acordo com Costa et al. (2019), a ocorrência de déficit hídrico, veranicos, temperaturas elevadas e dias nublados nos cerrados de baixa altitude favoreceram a incidência da podridão de macrophomina. Ishikawa et al. (2018) observaram que, em condições de elevadas temperaturas e déficit hídrico, as plantas de soja inoculadas com *M. phaseolina*, durante o estágio de enchimento de grãos, apresentaram sintomas mais severos da doença nas raízes das variedades de soja suscetíveis. Estes resultados são semelhantes aos observados neste trabalho.

Segundo Mayek-Pérez et al. (2002), o favorecimento de *M. phaseolina* nas condições de déficit hídrico acontece pela predisposição das plantas ao patógeno por reduzirem as taxas de transpiração, de trocas gasosas (abertura dos estômatos) no mesófilo foliar e o potencial hídrico, além de reter mais carboidratos, que ficam disponíveis ao patógeno. Com isso, híbridos tolerantes ao estresse hídrico apresentam melhor capacidade de ajuste osmótico, e conseqüentemente, maior tolerância à desidratação, tendendo a ser mais resistentes ao patógeno (CARDOSO, 2019). Essa característica corrobora com os resultados apresentados nesse trabalho, no qual os híbridos CRV2654 PRO2 e NS88 VIP3 são tolerantes ao estresse hídrico e comportaram-se como mais resistentes no ambiente 2, de menor disponibilidade hídrica (CRIVUS SEMENTES; NIDERA SEMENTE).

Já o período de maior disponibilidade hídrica foi observado na área de Latossolo (Ambiente 1) (Figura 5), onde houve maior severidade da antracnose do colmo. Esse comportamento do fungo confirma os resultados obtidos por Denti e Reis (2003) e Costa et al. (2010b), que demonstram que o patógeno é favorecido por condições de altas temperaturas e excesso de chuva ou umidade. O benefício dessa condição ambiental para o *C. graminicola* ocorre devido à disseminação dos conídios, que acontece principalmente através de respingos de água proveniente da chuva ou de irrigação, além da germinação dessas estruturas ocorrer somente na presença de água, onde formam-se os tubos germinativos, que se fixam na superfície dos tecidos do hospedeiro (BUFFON, 2010; CARVALHO, 2016).

Quanto à resistência ou suscetibilidade de híbridos à podridão de macrophomina, Sousa et al. (2021) e Costa et al. (2020), em trabalhos de reação

de híbridos de milho ao patógeno, constataram que o híbrido 20A44 VIP3 é resistente à doença, entretanto, nesta pesquisa, esse híbrido comportou-se como moderadamente suscetível no ambiente mais favorável à doença (ambiente 2). Em relação à antracnose do colmo, para os híbridos avaliados, não foram encontrados registros de relatos de resistência ou suscetibilidade na literatura. Entretanto, autores também relatam diferentes respostas à infecção do patógeno em outros híbridos, como é o caso dos híbridos BRS1035, resistente, e BRS1010, suscetível (COTA et al., 2009; COTA et al., 2010; COSTA et al., 2010).

Cota et al. (2009) relatam que plantas de milho suscetíveis à antracnose do colmo podem reduzir até 34,7% produtividade, em ambientes favoráveis ao patógeno. Resultados semelhantes foram obtidos por Matiello (2004) que, no primeiro ensaio de seu experimento, observou que, em melhores condições ambientais para o *C. graminicola* (elevada temperatura, plantio direto e chuva), ocorreram danos muito superiores à outra época de semeadura. Esse resultado corrobora com este estudo, no qual houve redução de aproximadamente 30% de PMST dos híbridos inoculados com o fungo no ambiente 1.

A colonização de *C. graminicola* por praticamente toda extensão do colmo confirma relatos de trabalhos anteriores sobre a capacidade de colonização sistêmica desse fungo. Após a formação do apressório e penetração da hifa de infecção, as hifas invadem as células próximas ao local de contaminação e os espaços intracelulares, causando a necrose dos colmos. Durante a colonização dos tecidos vasculares do colmo, ocorre a formação de esporos ovais, que são produzidos apenas em plantas dentro dos vasos do xilema, onde eles se movimentam, podendo atravessar os entrenós. Dessa forma, ocorre a colonização sistêmica do colmo pelo fungo, matando as células e desintegrando a extensão do tecido vascular (MIMS & VAILLANCOURT, 2002; POLITIS & WHEELER; 1973; SUKNO et al., 2008; SOUZA-PACOLA et al., 2020; VENARD & VAILLANCOURT, 2006).

O processo inicial de infecção da *M. phaseolina* é similar ao descrito para *C. graminicola*, com formação de apressórios e hifas infectivas, as quais crescem nos espaços inter e intracelulares, desintegrando as paredes celulares. Em seguida, ocorre a formação de microescleródios no xilema, causando bloqueio

dos vasos condutores e murcha da planta. Porém, diferente do *C. graminicola*, o *M. phaseolina* não forma estruturas capazes de ultrapassar os tecidos dos entrenós, ficando restrito ao entrenó inoculado. Amnon et al. (1975) e Hemmati et al. (2018), em estudos de inoculação de *M. phaseolina* em soja, verificaram que a colonização dos tecidos pelo fungo concentra-se apenas no local de infecção, o que confirma os resultados obtidos neste trabalho.

Quanto à redução do PMST, Lima et al. (2021) demonstraram que em áreas de Plintossolo, cultivadas com milho segunda safra, no Tocantins, híbridos inoculados com *M. phaseolina* apresentaram redução na produtividade de grãos de até 930 kg.ha⁻¹. Da mesma forma, Costa et al. (2019) também relataram redução de até 47% no peso de grãos de plantas infectadas com patógenos causadores das podridões de colmo em híbridos suscetíveis, incluindo os patógenos avaliados nesta pesquisa, concordando com os resultados de redução de PMST apresentados.

Além da influência do ambiente na redução de PMST nos milhos inoculados com *C. graminicola* e *M. phaseolina*, também é válido ressaltar a interferência causada pelos fungos no acúmulo de fotoassimilados que se encontram no colmo. Os patógenos causadores de podridão de colmo interferem no processo de translocação de água e nutrientes na planta, pela colonização e desintegração dos feixes vasculares do colmo, impedindo a chegada adequada desses compostos para as espigas durante o processo de enchimento de grãos, o que conseqüentemente reduz a produtividade da cultura (MAGALHÃES et al., 1995; MATIELLO, 2004).

A identificação dos genótipos resistentes permite que eles sejam utilizados nos programas de melhoramento genético visando a resistência à antracnose do colmo e a podridão de macrophomina, como possíveis genitores, além de serem recomendados no manejo integrado das duas doenças, e também podendo ser recomendados aos produtores de milho em áreas afetadas pelos patógenos.

4. CONCLUSÕES

As severidades das podridões de antracnose e macrophomina correlacionaram diferencialmente com os ambientes estudados. Para ambos os fungos, a disponibilidade hídrica influenciou na severidade das doenças de forma diferente. No ambiente com maior disponibilidade hídrica (Ambiente 1), *C. graminicola* apresentou maior agressividade nos híbridos, enquanto *M. phaseolina* foi mais severa no Ambiente 2, de maior restrição hídrica.

Os híbridos B2801 VYHR, P3707 VYH e 20A44 VIP3 destacaram-se por maior nível de resistência genética à antracnose do colmo, enquanto os híbridos K9606 VIP3, NS88 VIP3, CRV2654 PRO2, e P3707 VYH foram os mais resistentes à podridão de macrophomina (*Macrophomina phaseolina*). O híbrido mais resistente às duas doenças, nos dois ambientes, foi o P3707 VYH e os mais suscetíveis, MG580 VIP3 e NK525 VIP3.

REFERÊNCIAS

- BUFFON, R. B. Efeito de extratos de cravo da Índia e pimenta malagueta no controle *in vitro* do *Colletotrichum gloeosporioides*. In: Encontro Latino Americano de Pós-Graduação, 14, Vale do Paraíba, **Anais ...** Paraíba: Universidade do Vale do Paraíba, 2010.
- CASELA, C. R.; FERREIRA, A. S.; PINTO, N. F. J. A. **Doenças na cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2006.
- CARDOSO, E. A. S. **Respostas fisiológicas de cultivares de feijão sob déficit hídrico e inoculação de *Macrophomina phaseolina***. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal da Grande Dourados, Mato Grosso do Sul, 2019.
- CARVALHO, B. M. **Infecção de *Colletotrichum gloeosporioides* em folhas de maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis Sims*)**. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, 2016.
- COTA, L. V.; COSTA, R. V.; CASELA, C. R.; LANZA, F. E. **Efeito da podridão de colmo, causada por *Colletotrichum graminicola*, na produção da cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2009, 5 p. (Circular Técnica 120).
- COTA, L. V.; COSTA, R. V.; SILVA, D. D.; PARREIRA, D. F.; FERREIRA, A. S.; CASELA, C. R. **Incidência de *Colletotrichum graminicola* em colmos de genótipos de milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2010 (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 27).
- COTA, L. V.; COSTA, R. V.; SILVA, D. D., CASELA, C. R. PARREIRA, D. F. Quantification of yield losses due to anthracnose stalk rot on corn in Brazilian conditions. **Journal of Phytopathology**, [s.l.], v. 160, p. 680-684, 2012. DOI: 10.1111/jph.12008. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pab/a/JzntLTSYHdDTDKByGQBx4fB/?lang=en>. Acesso em: 03 de novembro de 2022.

COSTA, R. V.; FERREIRA, A. S.; CASELA, C. R.; SILVA, D. D. **Podridões fúngicas de colmo na cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2008.

COSTA, R. V.; COTA, L. V.; PARREIRA, D. F.; SILVA, D. D.; GUIMARÃES, P. E. O.; GUIMARÃES, L. J.; PARENTONI, S. N.; PACHECO, C. A. P. **Desenvolvimento de metodologia para inoculação de *Colletotrichum graminicola* em colmo de milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2010a, 8 p. (Circular Técnica 139).

COSTA, R. V.; SILVA, D. D.; COTA, L. V.; PARREIRA, D. F.; FERREIRA, A. S.; CASELA, C. R. Incidência de *Colletotrichum graminicola* em colmos de genótipos de milho. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, São Paulo, v. 36, p. 122-128, 2010b. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/sp/a/Jb7XBZpWmsVKyZBzKm6HnYs/abstract/?lang=pt>.

Acesso em: 12 de dezembro de 2022.

COSTA, R. V.; SILVA, D. D.; COTA, L. V.; CAMPOS, L. J. M.; ALMEIDA, R. E. M.; 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. (Circular Técnica 202).

COSTA, R. V.; COTA, L. V.; SILVA, D. D.; ALMEIDA, R. E. M.; CAMPOS, L. J. M.; CUSTODIO, D. P.; BERNARDES, F. P.; TUBIANA, D.; SILVA, A. F.; LIMA, L. S. **Resistência de híbridos de milho à podridão-de-colmo causada por *Macrophomina phaseolina***. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2019, 12 p. (Circular Técnica 270).

Crivus – A escolha da terra. **Transgênico CRV2654 VTPRO2 Semente de milho híbrido**. [s.l.], 2023. Portal. Disponível em: <<https://crivus.com.br/crv-2654-vtpro2-transgenico/>>. Acesso em: 15 de fevereiro de 2023.

DENTI, E. A.; REIS, E. M. Levantamento de fungos associados às podridões do colmo e quantificação de danos em lavouras de milho do Planalto Médio Gaúcho e dos Campos Gerais do Paraná. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p. 585-590, 2003.

FERREIRA, D. F. Sisvar: A computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. Package 'Exp.Des.pt': Pacote Experimental Designs. **R package version**, [s./], v. 1, n.2, 2013.

HEMMATI, P.; ZAFARI, D.; MAHMOODI, S. B.; HASHEMI, M.; GHOLAMHOSEINI, M.; DOLATABADIAN, A.; ATAEI, R. Histopathology of charcoal rot disease (*Macrophomina phaseolina*) in resistant and susceptible cultivars of soybean. **Rhizosphere**, Netherlands, v. 7, p. 27-34, 2018. DOI: 10.1016/j.rhisph.2018.06.009. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2452219818300533>.

Acesso em: 16 de novembro de 2022.

ISHIKAWA, M. S.; RODRIGUES, N. R.; OLIVEIRA, E. C.; ALMEIDA, A. A.; BALBI-PEÑA, M. I. Seleção de genótipos de soja para resistência à podridão negra da raiz (*Macrophomina phaseolina*). **Summa Phytopathologica**, Botucatu, São Paulo, v. 44, n. 1, p. 38-44, 2018. DOI: 10.1590/0100-5405/178653. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/sp/a/bYtFSrVMbgQxfrs65DxG8xm/?lang=pt>. Acesso em:

19 de dezembro de 2022.

KÖPPEN, W.; GEIGER, R. **Klimate der Erde**. Gotha: Verlag Justus Perthes, 1928.

LANZA, E. F.; SILVA, D. D.; COTA, L. V.; GUIMARÃES, E. A.; AGUIAR, F. M.; GOMES, G. R. MENEZES, C. B. Avaliação da resistência cruzada de genótipos de milho à podridão do colmo e a acumulação de fumonisinas totais nos grãos. *In: XXXI Congresso Nacional de Milho e Sorgo*, 31, 2016, Bento Gonçalves.

LIMA, L. S.; ALMEIDA, R. E. M.; COSTA, R. V.; CUSTODIO, D. P.; ROCHA, B. R.; PINHO, S. L.; ARAÚJO, T. A.; OLIVEIRA, F. F.; SOUSA, C. W.; TUBIANA, D. **Danos causados pela podridão de colmo (*Macrophomina phaseolina*) no consórcio de milho safrinha com braquiária**. *In: XVI Seminário Nacional de Milho Safrinha*, 16, 2021, Assis, São Paulo.

LINHARES, C. M. S. **Reação de acessos e heranças da resistência a *Macrophomina phaseolina* e efeito da temperatura na podridão cinzenta em meloeiro**. 2018. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Universidade Federal Rural do Semiárido, Rio Grande do Norte, 2018.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M.; PAIVE, E. **Fisiologia da planta de milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 27p, 1995.

MATIELLO, R. R. **Patossistema milho X *Colletotrichum graminicola*: estudo de herança, mapeamento de genes de resistência e estimativas de danos na produção**. 2004. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, São Paulo, 2004.

MATIELLO, R. R.; LOPES, M. T. G.; BRUNELLI, K. R.; CAMARGO, L. E. A. Comparison of yield damages of tropical maize hybrids caused by anthracnose stalk rot. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 38, p. 128-132, 2013.

MATIELLO, R. R.; MÁXIMO, D. S., COELHO, C. J. Genetic control of anthracnose stalk rot resistance in tropical maize. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 51, 2021. DOI: 10.1590/1983-40632021v51168291. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pat/a/zxKQ3sPBmRmDgRhrWRX8fcv/>. Acesso em: 16 de dezembro de 2022.

MAYEK-PÉREZ, N.; GARCÍA, R.; LÓPEZ, C.; ACOSTA, J. A.; SIMPSON J. Water relations, hisyopathology and growth of common bean (*Phaseoulus vulgaris* L.) During pathogenesis of *Macrophomina phaseolina* under drought stress. **Physiological and molecular plant pathology**, [s.l.], v. 60, p. 185-195, 2002. DOI: 10.1006/pmpp.2001.0388. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0885576501903881>. Acesso em: 22 de novembro de 2022.

MEDEIROS, F. H. V. *et al.* **Novos sistemas de produção**. Núcleo de Estudos em Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras. Lavras: UFLA, 2017.

MIHAIL, J. D. *Macrophomina*. In: Singleton, L. L.; Mihail, J. D.; Rush, C. M. (Ed). Methods for research on soilborn phytopathogenic fungi. St. Paul: **The American Phytopathological Society**, 1992.

MIMS, C. W.; VAILLANCOURT, L. J. Ultrastructural characterization of infection and colonization of maize leaves by *Colletotrichum graminicola*, and by a *C. graminicola* pathogenicity mutante. **Phytopathology**, St. Paul, v. 92, p. 803-812, 2002.

Nidera Sementes. **NS88 VIP3**: O híbrido de quem não se contenta com média. [s.], 2023. Portal. Disponível em: <https://www.niderasementes.com.br/portfolio/ns-88-vip3/>. Acesso em: 15 de fevereiro de 2023.

OLIVEIRA, H. J. B.; SANTOS, A. C.; OLIVEIRA, L. B.; ARAUJO, T. A.; LIMA, L. S.; ROCHA, B. R.; OLIVEIRA, F. F.; CLEMENTE, V. V.; CUSTODIO, D. P.; COSTA, R. V.; ALMEIDA, R. E. M. **Híbridos de milho com maior desempenho para cultivo em safrinha em latossolo e plintossolo pétrico**. In: XVI Seminário Nacional de Milho Safrinha, 16, 2021, Assis, São Paulo.

POLITIS, D. J.; WHEELER, H. Ultrastructural study of penetretion of maize leaves by *C. graminicola*. **Physiol. Plant Pathology**, [s.], v.3, p.456-471, 1973.

R CORE TEAM. **R**: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria, 2019.

SOUZA-PACOLA, E. A.; SPERANDIO, I. F.; MEIRELLES, W. F.; LINDE, G. A.; COLAUTO, N. B.; PACOLA-MEIRELLES, L. D. Citologia comparativa do processo de infecção do conídio falcado e oval de *Colletotrichum sublineola* em cultivar de sorgo suscetível e resistente. **Research, Society and Development**, São Paulo, v. 9, n. 11, 2020. DOI: 10.33448/rsd-v9i11.10211. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1128610>. Acesso em: 21 de dezembro de 2022.

SUKNO, S. A.; GARCÍA, V. M.; SHAW, B. D.; THON, M. R. Root infection and systemic colonization of maize by *Colletotrichum graminicola*. **Applied and Environmental Microbiology**, [s.], v. 74, Issue 3, p. 823-832, 2008. DOI: 10.1128/AEM.01165-07. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/AEM.01165-07>. Acesso em 04 de janeiro de 2022.

- SILVA, V. A. **Repostas de cultivares de milho a *Colletotrichum graminicola***. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal, São Paulo, 2006.
- SOUSA, C. W. A.; COSTA, R. V.; ALMEIDA, R. E. M.; CAMPOS, L. J. M.; PINHO, S. L. S.; TUBIANA, D. O.; LIMA, L. S.; ROCHA, B. R. Resistência de híbridos e aplicações de fungicida para o controle da podridão-de-carvão-do-milho. *In*: XIX Seminário de iniciação científica, PIBIC/CNPq, **Anais [...]**, Palmas: Embrapa Pesca e Aquicultura, 2021.
- THORNTON, C. W.; MATHER, J. R. The water balance. Centerton, NJ: Drexel Institute of Technology – Laboratory of Climatology, **Climatology**, [s.], v. 8, 104p, 1955.
- VENARD, C.; VAILLANCOURT, L. J. Colonization of fiber cells by *Colletotrichum graminicola* in wounded maize stalks. **Phytopathology**, St. Paul, v. 97, n. 4, p. 438-447, 2006. DOI: 10.1094/PHYTO-97-4-0438. Disponível em: <https://apsjournals.apsnet.org/doi/epdf/10.1094/PHYTO-97-4-0438>. Acesso em: 18 de janeiro de 2022.
- ZANELLA, J. E. **Influência dos métodos de inoculação de isolados de *Macrophomina phaseolina* na caracterização de genótipos de feijão, milho e soja**. Dissertação (Mestrado) – Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, Santa Catarina, 2018.