UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS CURSO DE AGRONOMIA

TÚLIO DA SILVA FLORENÇA TAVARES

REAÇÃO DE HÍBRIDOS DE MILHO AOS FITONEMATOIDES Meloidogyne incognita, M. javanica E Pratylenchus brachyurus

TÚLIO DA SILVA FLORENÇA TAVARES

REAÇÃO DE HÍBRIDOS DE MILHO AOS FITONEMATOIDES Meloidogyne incognita, M. javanica E Pratylenchus brachyurus

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Agronomia, da Universidade Federal de Uberlândia, para obtenção do grau de Engenheiro Agrônomo.

Orientadora: Maria Amelia dos Santos

TÚLIO DA SILVA FLORENÇA TAVARES

REAÇÃO DE HÍBRIDOS DE MILHO AOS FITONEMATOIDES Meloidogyne incognita, M. javanica E Pratylenchus brachyurus

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Agronomia, da Universidade Federal de Uberlândia, para obtenção do grau de Engenheiro Agrônomo.

Aprovado pela Banca Examinadora em 16 de novembro de 2011.

Eng. Agr. Fernando Oliveira Franco Membro da Banca Prof. Dr. Ednaldo Carvalho Guimarães Membro da Banca

Profa. Dra. Maria Amelia dos Santos Orientadora

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus por me conceder saúde, força e esperança durante a condução deste trabalho.

À toda minha família, em especial pai, mãe, irmão e avó Almira pelo carinho, amor e apoio.

À todos docentes e funcionários da Universidade Federal de Uberlândia, que direta ou indiretamente me auxiliaram no trabalho e nos conhecimentos adquiridos durante o curso.

À professora Maria Amelia dos Santos pela orientação, paciência, conhecimentos e confiança em mim depositados.

Ao técnico do Laboratório de Nematologia, Aires Ney Gonçalves de Souza, pela amizade e apoio durante a condução do trabalho.

À todos os colegas da 43ª Turma de Agronomia, pela convivência harmoniosa e pelas amizades formadas ao longo do curso.

Aos meus amigos que mesmo indiretamente sempre me apoiaram.

Enfim, à todos aqueles que de uma forma ou outra participaram e me auxiliaram na conclusão deste trabalho.

RESUMO

O ensaio foi conduzido sob condições de casa de vegetação no período de 16 de março a 29 de maio de 2011 no Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Uberlândia. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com 25 híbridos de milho e três espécies de nematoides com quatro repetições. Cada espécie de nematoide foi um ensaio. As sementes de milho foram semeadas em copos plásticos com capacidade de 0,5 L contendo substrato (solo:areia) na proporção de 1:2. Em cada copo houve desbaste, deixando apenas uma planta por vaso. A inoculação foi feita 15 dias após a semeadura, aplicando-se 10 mL da suspensão de nematoides, constituindo-se a população inicial. A suspensão de ovos foi calibrada para conter 500 ovos.mL⁻¹ de Meloidogyne incognita ou de M. javanica e 100 juvenis e/ou adultos.mL⁻¹ de *Pratylenchus brachyurus*. Após 60 dias da inoculação, as raízes foram processadas pela técnica do liquidificador e a partir da suspensão obtida foi determinado o número de nematoides por sistema radicular. O solo de cada copo foi homogeneizado e uma alíquota de 150 cm³ de solo foi recolhida para o processamento no laboratório pela técnica da flutuação centrífuga em solução de sacarose. A suspensão obtida foi utilizada para determinação do número de juvenis de 2º estádio no solo. A população final consistiu na somatória do número de nematoides por sistema radicular e no solo. O fator de reprodução (FR) foi calculado pela razão entre população final e população inicial, e todos os híbridos de milho apresentaram FR maior que 1, comportando-se como bons hospedeiros aos três nematoides testados. A exceção foi o híbrido 30A25Hx, que apresentou FR de 0,86 para M. incognita.

Palavras-chave: nematoide das lesões radiculares, nematoide das galhas, Zea mays L.

SUMÁRIO

| 1 INTRODUÇÃO | 6 |
|---|----|
| 2 REVISÃO DE LITERATURA | 8 |
| 2.1 A espécie vegetal estudada | 8 |
| 2.2 Meloidogyne incognita e M. javanica | 9 |
| 2.3 Pratylenchus brachyurus | 11 |
| 2.4 Manejo de fitonematoides | 12 |
| 3 MATERIAL E MÉTODOS | 16 |
| 3.1 Preparo do inóculo dos fitonematoides | 16 |
| 3.2 Inoculação dos fitonematoides | 16 |
| 3.3 Avaliação da população dos nematoides | 17 |
| 3.3.1 População dos nematoides no solo | 17 |
| 3.3.2 População dos nematoides nas raízes | 18 |
| 3.3.3 Fator de reprodução | 18 |
| 3.4 Análise estatística | 18 |
| 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 19 |
| 5 CONCLUSÕES | 21 |
| REFERÊNCIAS | 22 |

1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é uma planta monoica, pertencente à ordem *Poales*, família *Poaceae*, tribo *Andropogoneae*, e gênero *Zea*. Dentro desse gênero, *Zea mays* é a espécie de milho cultivada em escala comercial. Com relação à sua origem, evidências arqueológicas e botânicas indicam que a mesma se deu na América Central. Logo após o descobrimento da América, o milho foi levado para Europa, onde passou a ser cultivado em jardins. Posteriormente, foi conhecido o valor nutricional desse cereal, sendo a principal fonte de carboidratos em vários países (AYALA-OSUNA, 2001).

O milho pode ser conduzido em diferentes condições climáticas, sendo que a região apta ao cultivo está compreendida entre 58° de latitude norte e 40° de latitude Sul, podendo ser encontrado em diversas altitudes (DUARTE, 2000). Por ter alto potencial produtivo e ser responsivo à tecnologia, possibilitou ao lado da soja, a expansão agrícola brasileira. Esse cereal pode ser semeado no período chuvoso como safra de verão e em safrinha, com semeadura de fevereiro a março, e atualmente é a cultura mais utilizada para se fazer rotação com a soja (DUARTE et al., 2006).

Todavia, a importância do milho não está apenas restrita a uma opção de rotação com a soja, pois o mesmo pode ser utilizado para diversos fins, seja para o consumo humano, através da espiga *in natura*, pamonha, pipoca, bolo, angus, seja para a alimentação de animais, por meio de silagem e rações. Dentro desse panorama, entre 70 e 80% do milho produzido no Brasil é destinado para a fabricação de rações para suínos e aves (DUARTE et al., 2006).

Em virtude desse elevado potencial de mercado do milho, aliado ao fato da planta ser responsiva à tecnologia, observa-se que essa cultura é nobre, sendo conduzida por grandes produtores com elevado emprego de tecnologia, o que comprova a rentabilidade da mesma. Entretanto, apesar das vantagens que o cultivo de milho proporciona ao produtor, sabe-se que a rotação de culturas é uma medida importante a ser empregada, uma vez que o uso contínuo de milho em uma mesma área pode resultar no aparecimento de problemas com nematoides (LORDELLO, 1982).

Em milho, os principais nematoides são *Meloidogyne incognica* (Kofoid & White) Chitwood, *M. javanica* (Treub) Chitwood, *Pratylenchus brachyurus* (Godfrey) Filipjev & Schwrmans Stekhoven e *Pratylenchus zeae* Graham. Plantas de milho, quando infectadas pelos nematoides, apresentam parte aérea enfezada e clorótica, espigas de tamanho reduzido e

mal granadas, e murcha durante os dias mais quentes, recuperando-se à noite. Essa sintomatologia pode ocorrer em reboleiras ou em grandes extensões (TIHOHOD, 2000).

A redução dos prejuízos causados pelos nematoides pode se dar evitando o cultivo em áreas infestadas e não permitindo a introdução deles, em locais não contaminados. Quando há a presença dos mesmos, existem algumas alternativas de controle, como alqueive (preparo do solo com revolvimentos constantes), rotação de culturas com plantas não hospedeiras ou antagonistas, destruição e/ou remoção de plantas infectadas, além do controle químico ou biológico. Por fim, vale ressaltar que a severidade do ataque desses fitopatógenos depende do tipo de solo da área, bem como da raça e espécie do nematoide e da suscetibilidade da cultivar ou híbrido que foi semeado (TIHOHOD, 2000).

Ademais, sabe-se que o emprego de tecnologias, como o melhoramento genético, proporcionou ao longo dos anos significativos ganhos em produtividade, justificando cada vez mais o uso da tecnologia, o que confere à escolha do híbrido, um fator importante na implantação da cultura, pois a cada ano, vários híbridos são lançados no mercado.

Diante desse panorama, o objetivo do trabalho foi avaliar a reação de diferentes híbridos de milho inoculados separadamente com *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *Pratylenchus brachyurus*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A espécie vegetal estudada

O milho é uma planta monoica, dotada de haste (colmo) cilíndrica, com nós e entrenós compactos, que também estão presentes abaixo do nível do solo, num número de cinco a seis nós. O sistema radicular é composto de raízes seminais, definitivas e suporte. As raízes seminais são provenientes diretamente da semente, e apresentam vida curta. Já o sistema radicular definitivo é o responsável pela absorção de água, nutrientes e sustentação da planta até o final do ciclo da cultura, sendo do tipo fasciculado. Por fim, as raízes adventícias surgem acima do solo, aos 50 dias após a emergência, com a função de auxiliar na sustentação e fixação da planta (GOODMAN; SMITH, 1987).

A respeito das folhas, as duas primeiras a serem formadas são embrionárias e apresentam pontas arredondadas, e as demais folhas são de limbo longo, dispostas alternadamente, com bainhas que envolvem o colmo, e com a notória presença de uma espessa nervura central. Sobre o sistema reprodutivo, nota-se a existência de duas inflorescências, sendo uma masculina (pendão), localizada na porção superior da planta, e outra feminina (espiga ou boneca), que fica na porção mediana da planta. Uma característica importante com relação à reprodução dessa planta é que a mesma é protândrica, ou seja, em uma mesma planta o pólen começa a ser liberado 3 dias antes da espiga estar receptiva. Esse fator dificulta a autofecundação do milho, mas não impede a sua ocorrência, pois o pendão continua liberando pólen após a espiga estar receptiva. Dessa forma, o vento, que leva o pólen do pendão para longas distâncias, é o principal fator que dificulta a autofecundação do milho (GOODMAN; SMITH, 1987).

Segundo Agrianual (2009), os maiores produtores mundiais de milho são, respectivamente, Estados Unidos, China e Brasil. Com relação ao nosso país, de acordo com o 12º Levantamento — Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos, realizado pela Companhia Nacional de Abastecimento em Setembro de 2011, a área cultivada com milho de Primeira Safra no Brasil foi de 7.916.300 hectares. Somando esse valor com a área cultivada com a Segunda Safra (5.269.900 hectares), obtém-se o total de 13.838.700 hectares de milho no Brasil. Com relação aos estados, os maiores produtores são Paraná, seguido pelo Mato Grosso e Minas Gerais. Em termos de produtividade, a análise dos dados da CONAB mostra que, no Brasil, a produtividade média do milho na safra 2010/2011 foi baixa, na ordem de 4156 kg.ha⁻¹. Todavia, em estados como Paraná, a produtividade média estimada para a safra

de 2010/2011 foi de 7873 kg.ha⁻¹, enquanto que na Paraíba, a produtividade média esperada foi de 717 kg.ha⁻¹. Esses dados refletem a disparidade tecnológica existente entre as regiões brasileiras, o que demonstra que as tecnologias e conhecimentos obtidos devem ser difundidos em nosso país, tanto para os grandes quanto para os pequenos produtores, para que melhore os níveis de produtividade. Dentre essas tecnologias, destaca-se o uso de híbridos, além de outros produtos e práticas que possam vir a garantir a expressão do potencial produtivo dos mesmos. Além disso, a média nacional de produtividade não condiz com o nível tecnológico já encontrado em lavouras comerciais, uma vez que o valor obtido considera diferentes regiões, com diferentes sistemas de cultivo e finalidades comerciais (DUARTE et al., 2006).

Com relação aos fitonematoides da cultura do milho, em todas as áreas do mundo onde o cereal é cultivado já foram relatadas mais de 40 espécies de 12 gêneros de nematoides parasitos de suas raízes. No Brasil, as espécies de nematoides encontradas em diversas lavouras estudadas são *Pratylenchus brachyurus*, *Pratylenchus zeae*, *Helicotylenchus dihystera*, *Criconemella* spp., *Meloidogyne* spp. e *Xiphinema* spp. (COSTA et al., 2010).

2.1 Meloidogyne incognita e M. javanica

Com relação ao nematoide das galhas, acreditava-se que o mesmo não se hospedava no milho. Todavia, em 1986, no município de Santa Helena (GO), foi relatada a presença de *M. incognita* raça 3 nas raízes de milho. Na ocasião, as plantas tinham cerca de 30 cm de altura, e apresentavam forte amarelecimento, além da presença de galhas nos sistemas radiculares, que podiam medir até quatro vezes o diâmetro da raiz no local. Após essa descoberta, foram testados com *M. incognita* raça 3 os híbridos de milho IAC Hs1228, IAC Hmd 7974 e IAC Hs1227, e o resultados do experimento concluíram que todos os cultivares analisados se comportaram como suscetíveis à *M. incognita* raça 3, comprovando que plantas de milho podem ser suscetíveis ao nematoide das galhas (LORDELLO et al., 1986).

A palavra *Meloidogyne* vem do grego melon, cujo significado é maçã ou fruto do cabaceiro, cabaça, mais o sufixo oides, oid (semelhança), mais gyne (mulher ou fêmea). Assim *Meloidogyne* nada mais é do que uma fêmea semelhante a uma cabaça (TIHOHOD, 2000).

Tanto *M. incognita* quanto *M. javanica* são espécies de nematoides endoparasitos sedentários e obrigatórios que causam problemas no milho, reduzindo a produtividade da cultura. Ambas as espécies são encontradas com frequência nas regiões produtoras

brasileiras, tendo ampla gama de hospedeiros. Com relação ao ciclo de vida de *Meloidogyne*, esse é iniciado através da deposição de ovos, feita pela fêmea que se encontra no interior da raiz de uma planta parasitada. Os ovos geralmente estão em uma matriz gelatinosa protetora, onde podem ser encontrados mais de 1000 ovos. Dessa forma, percebe-se o alto potencial reprodutivo desse gênero. Logo após a deposição, tem-se o início do desenvolvimento embriogênico do ovo, resultando em sucessivas divisões celulares até a formação do juvenil de primeiro estádio (J1) ainda no interior do ovo. Posteriormente, ocorre a primeira ecdise, formando-se o juvenil de segundo estádio (J2), que deixará o ovo, passando a se locomover no solo a procura de uma planta hospedeira. Portanto, J2 é considerada a fase infectiva do gênero *Meloidogyne*. Dessa forma, quando o juvenil de segundo estádio encontra uma planta hospedeira, o mesmo penetra na raiz da mesma, geralmente na região próxima a coifa (TIHOHOD, 2000).

Uma vez no interior da raiz, o nematoide se locomove entre as células diferenciadas, de forma que a parte anterior de seu corpo fique próximo à região de alongação celular no córtex, fazendo com que ocorra uma intensa multiplicação celular (hiperplasia) em torno da região anterior do nematoide. Nessa etapa, o estilete, presente no aparelho bucal dos nematoides, tem papel fundamental, já que com o auxílio do mesmo, o nematoide punciona a parede celular, além de liberar secreções provenientes das glândulas esofagianas, que causam o alargamento das células do cilindro vascular, culminando na formação das "células gigantes", que são células nutridoras para o parasitismo do nematoide. Ao mesmo tempo, é normal que ocorra o alargamento do diâmetro das raízes, formando as galhas, mas em milho esse fenômeno não é observado (TIHOHOD, 2000).

Concomitantemente à formação das células gigantes e galhas, a largura do J2 aumenta e ocorre divisão das suas células do primórdio genital, que se tornam distintas. Dessa forma, ocorre uma série de mudanças no juvenil de segundo estádio, resultando em outras duas ecdises, até que o juvenil se torne de quarto estádio (J4), e a partir da última ecdise diferenciase em macho ou fêmea (TIHOHOD, 2000).

Com relação ao tipo de reprodução, essa normalmente se dá por partenogênese, e a duração do ciclo de vida varia de acordo com a planta hospedeira e fatores ambientais, principalmente a temperatura. Dessa forma, de acordo com TIHOHOD (2000), em climas mais quentes, a taxa de multiplicação dos nematoides é de 5 a 10 gerações por ano, além de que os mesmos ficam mais ativos para atacarem as plantas, quando comparado em condições de baixa temperatura. Segundo Lordello (1982), a temperatura máxima tolerada pela maioria

dos nematoides varia entre 15 e 30°C, sendo que fora deste intervalo, os mesmos reduzem suas atividades vitais.

É importante considerar que a intensidade dos danos depende de uma série de fatores a serem examinados como a população inicial do nematoide na área, condições ambientais locais, presença de outros microrganismos fitopatogênicos, idade da planta e suscetibilidade da cultivar utilizada (TIHOHOD, 2000). Com relação à sintomatologia, nematoides do gênero *Meloidogyne* podem causar clorose, redução e deformação do sistema radicular, resultando em menor eficiência da planta de milho em absorver água e nutrientes, culminando em menor produção (TIHOHOD, 2000).

2.2 Pratylenchus brachyurus

Outro nematoide importante para o milho é o Pratylenchus brachyurus, mais conhecido como nematoide das lesões radiculares, que tem sido considerado como mais importante para a agricultura brasileira. É um endoparasito migrador obrigatório, sendo encontrado no interior das raízes das plantas ou de outros órgãos subterrâneos, como tubérculos ou frutos hipógeos. Com relação à sua morfologia, apresenta corpo fusiforme com tamanho microscópico, geralmente atingindo até 0,9 mm de comprimento (LORDELLO, 1982). O estilete é bem desenvolvido, com 20 µm de comprimento e largos bulbos basais. Tanto o macho quanto a fêmea são vermiformes, não ocorrendo dimorfismo sexual. A espécie pode ser reconhecida observando-se sua região labial que é esclerotizada, o conteúdo intestinal, que é escuro e a sobreposição das glândulas esofagianas. A reprodução ocorre via partenogênese mitótica e por esse motivo os machos são extremamente raros. As fêmeas possuem somente um ovário anterior, consideradas como prodelfas, e com saco pós-uterino de comprimento variável. Ademais, o nematoide das lesões apresenta cutícula fina, com delicada estriação transversal, e as fêmeas podem ser diferenciadas dos machos por estas serem maiores. Além disso, é importante ressaltar que trata-se de uma espécie polífaga, possuindo ampla gama de hospedeiros, que inclui plantas infestantes, ornamentais, hortaliças e culturas anuais e perenes. Diferentemente de Meloidogyne, todos os estádios de Pratylenchus, à exceção do juvenil de primeiro estádio, são móveis, locomovendo-se livremente dentro das raízes e entre as raízes e o solo, sendo considerados estádios infectivos. Dessa forma, tanto adultos quanto juvenis penetram nas raízes, através ou entre as células do córtex, e se alimentam do conteúdo celular. A entrada do nematoide no interior da raiz não é sempre um processo estritamente mecânico, pois pode envolver também a presença de enzimas (LORDELLO, 1982).

Dessa forma, o ciclo desse nematoide inicia-se com a deposição do ovo feita pela fêmea de *P. brachyurus*, que ocorre isoladamente no solo ou, com maior frequência, no interior das radicelas parasitadas. O juvenil de primeiro estádio (J1) ocorre apenas no interior do ovo, onde também ocorrerá a primeira ecdise, culminando na formação do J2. O J2 eclode, em torno de seis a oito dias após a deposição do ovo, com temperatura ideal para esse processo, variando de 28 a 30°C. Após essa etapa, o juvenil de segundo estádio está liberado e ainda sofrerá outras três ecdises, diferenciando-se em macho ou fêmea. A duração do ciclo é variável e depende de diversos fatores, como temperatura. Todavia, sabe-se que em temperaturas em torno de 30-35°C, o ciclo se completa com 28 dias. Assim, pode ocorrer mais de uma geração durante o ciclo vegetativo do milho. A longevidade de *P. brachyurus* em solos de pousio pode chegar até 21 meses. Ademais, esse nematoide é capaz de parasitar várias espécies de plantas, principalmente gramíneas, possibilitando a reprodução do mesmo (TIHOHOD, 2000).

Uma vez dentro da raiz da planta, *P. brachyurus* se movimenta através ou entre as células do córtex, alimentando-se das células próximas ao local de penetração, resultando na morte das mesmas, além de promoverem a abertura de portas de entrada para outros patógenos. Sendo assim, a sintomatologia é caracterizada pela presença de ferimentos radiculares, que podem servir como porta de entrada para outros organismos patogênicos, resultando na formação de lesões que destroem os tecidos da raiz. Dessa forma, as plantas tornam-se raquíticas, podendo apresentar murchamento durante a estação seca e clorose na parte aérea, sendo que os sistemas radiculares mostram-se reduzidos e pouco volumosos. Em condições de ataque severo, pode ocorrer desfolha total. Por fim, é importante ressaltar que essa sintomatologia ocorre em "reboleiras" (TIHOHOD, 2000). De acordo com Lordello (1982), o nematoide das lesões radiculares pode aparecer isolado ou associado a outros patógenos, como bactérias e fungos, podendo resultar na redução do sistema radicular, fazendo com que a planta apresente sintomas reflexos na parte aérea, que apesar de evidentes, são inespecíficos.

2.3 Manejo de fitonematoides

Para que o manejo de fitonematoides em lavouras de milho seja conduzido de forma correta é imprescindível a realização da amostragem, que possibilita a constatação da

presença de nematoides na área. Dessa forma, para representar a área, devem ser coletadas de 10 a 20 amostras simples, em ziguezague, em uma profundidade de aproximadamente 20 cm em cada subdivisão selecionada.

Caso seja comprovada a existência dos fitonematoides na área, deve-se iniciar o manejo dos mesmos, que nada mais é do que procurar mantê-los em um nível populacional que não cause danos econômicos à cultura. Atualmente, sabe-se que a melhor forma de controlar os nematoides e demais pragas na agricultura é realizando o manejo integrado, ou seja, utilizar um conjunto de estratégias variadas visando a redução populacional dos patógenos (TIHOHOD, 2000).

Diante desse panorama, várias são as estratégias que podem ser usadas para o controle dos fitonematoides. Uma delas é a utilização de cultivares resistentes, que além de possibilitarem um melhor desenvolvimento da planta, reduzem o uso dos defensivos agrícolas. Dessa forma, em avaliação da reação de 107 genótipos de milho a *Meloidogyne incognita*, raças 1 e 3, todos foram considerados bons hospedeiros desse nematoide. Entretanto, o produtor tem no mercado diversos híbridos resistentes ou tolerantes à *Meloidogyne* spp. Com relação a *Pratylenchus* spp., vários experimentos foram feitos testando diferentes híbridos. Sawazaki et al. (1987), testaram as linhagens de milho Col 2 (22) e Ip 48-5-3, em áreas infestadas por *P. zeae* (76%) e *P. brachyurus* (24%), e concluíram que a linhagem Col 2 (22) era resistente, enquanto que a outra linhagem analisada foi suscetível aos nematoides. Segundo esses mesmos autores, a resistência observada na linhagem Col 2 (22) ocorre devido a dois pares de genes dominantes de efeitos genéticos aditivos.

Em outro trabalho, realizado em casa de vegetação, avaliando diferentes híbridos de milho comercializados no Brasil, os resultados demonstraram que todos os materiais testados apresentaram fator de reprodução maior que 1 para *M. incognita* raça 2, comportando-se, portanto, como bons hospedeiros desse nematoide. Os híbridos avaliados no experimento foram DOW 519, DKB 390, BAYER A3663, PIONEER 30F75, CATI VERDE II, PIONEER 30F87, DOW 8480DKB 466, BAYER A2560, CATI AL-30, CATI AL-34, DKX 8512, CATI ALVORADA, BAYER HT – 125, DOW 8460, CATI AL – BAND, DKB 199, BAYER A2288, AGX 9504, CATI PIRATININGA, CATI BRANCO, DOW 506, AGX 9014, BAYER A4450, DOW 2C599, AG 7000, DOW 2C577, AGROCERES AG 1051, PIONEER 30F90 E CATI IPIRANGA. Entretanto, a maioria desses mesmos materiais quando inoculados com *M. javanica* apresentaram FR menor que 1, comportando-se como resistentes, de forma que apenas DKB 390, AGX 9504, CATI BRANCO, CATI VERDE II e CATI IPIRANGA apresentaram padrão de suscetibilidade (WILCKEN et al., 2006).

Os híbridos AG 3010, AG 5011, AG 5016, AG 6018, AG X6690, C747, C806, C901, C929, Avant, Dominium, Exceler, Master, ND 3047, Premium, P 3027, P 3041, P 3071, P 3081, P 30F33, P 30F80, P 32R21, P X1297J, P X1297H, Tork, Traktor, XL 215, XL 221, XL 255, XL 344, XL 355, XL 357 apresentaram FR menor que 1, sendo considerados como maus hospedeiros de *M. javanica*. Os híbridos P 3041, C 909, C 333B, AG 6016, P 3021, 30 K 75, AG 9010, AG 8014 E XL 340 apresentaram FR maior que 1, assim considerados bons hospedeiros desse nematoide (MANZOTTE et al., 2002). Ademais, Ribeiro et al. (2002) durante a avaliação de 85 genótipos de milho à *M. javanica* observaram que a maioria desses materiais comportaram-se como resistentes. Já para *M. incognita* foram avaliados 55 híbridos, sendo que todos apresentaram fator de reprodução maior que 1.

Além disso, a rotação de culturas com espécies não hospedeiras do nematoide presente na área é uma prática eficiente e recomendada. A Embrapa (2003), em áreas infestadas por *M. incognita*, indica a rotação com amendoim. Se a espécie dominante for *M. javanica*, a rotação com amendoim, algodão ou sorgo resistente é recomendada (PINTO, 2006). Com relação ao *P. brachyurus*, a rotação com a variedade de milheto ADR300 e com o híbrido ADR7010 traz bons resultados ao controle, pois ambos os materiais são resistentes ao nematoide das lesões, além de também apresentarem resistência à *M. incognita*. Vale ressaltar que, quando essa prática é adotada, deve-se ter o cuidado de controlar as plantas infestantes que porventura possam ser hospedeiras dos nematoides.

Outra estratégia seria o uso de plantas antagonistas, como algumas espécies de crotalárias. No caso de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica*, várias são as espécies indicadas como adubos verdes e plantas antagonistas que controlam os mesmos, sendo elas: *Crotalaria juncea*, *C. striata*, *C. paulina*, *C. mucronata*, *C. lanceolata*, *C. grantiana*, *C. retusa*, *C. pallida* e *C. spectabilis*.

O controle químico proporciona bons resultados no controle de nematoides em milho. Resultados de pesquisa comprovam que, em áreas infestadas com *Pratylenchus zeae* e *Helicotylenchus dihystera*, o controle químico permitiu aumento na produção de grãos em 39%. Além disso, foi demonstrado em parcelas experimentais, com a presença de *Pratylenchus* sp. e *Helicotylenchus* sp., que o controle químico proporcionou acréscimo na produtividade de 699 kg.ha⁻¹ (PINTO, 2006). Com relação à produtos fitossanitários, segundo o AGROFIT (2011), existem três nematicidas registrados para a cultura do milho, Avicta 500 FS, Diafuran 50 e Furadan 50GR, sendo que os dois primeiros controlam *P. brachyurus* e o último, *P. zeae*.

O manejo que também pode ser utilizado é o alqueive, que consiste em deixar uma área em pousio, sem os hospedeiros dos nematoides (culturas ou plantas daninhas). No caso de *Meloidogyne* spp e *Pratylenchus* spp essa técnica é válida, já que ambos são parasitos obrigatórios. A desvantagem é que o solo fica exposto, além de não gerar renda ao produtor no período de pousio (TIHOHOD, 2000).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi instalado e conduzido na casa de vegetação e no Laboratório de Nematologia Agrícola do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Uberlândia, no período de 16 de março a 29 de maio de 2011.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, consistindo em 25 tratamentos para três espécies de fitonematoides, com quatro repetições cada. Os experimentos foram individuais para cada espécie de nematoide, e os híbridos de milho foram da Empresa Dow Agrosciences: 30A37, 30A68, 30A86, 30A91, 30A95, 2B280, 2B655, 2B280Hx, 2B433Hx, 2B512Hx, 2B587Hx, 2B604Hx, 2B655Hx, 2B688Hx, 2B707Hx, 2B710Hx, 2A550Hx, 20A78Hx, 20A55Hx, 30A25Hx, 30A37Hx, 30A77Hx, 30A86Hx, 30A91Hx, 30A95Hx.

Os fitonematoides *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *Pratylenchus brachyurus* foram estudados no experimento.

3.1 Preparo do inóculo dos fitonematoides

O inóculo dos fitonematoides foi obtido pelo processamento de raízes de soja e milho parasitadas pelos nematoides a serem estudados, no Laboratório de Nematologia Agrícola da Universidade Federal de Uberlândia.

Para o preparo, foi utilizada a técnica do liquidificador doméstico (BONETI; FERRAZ, 1981). As raízes foram fragmentadas em 1 a 2 cm de comprimento, e posteriormente colocadas em um copo de liquidificador doméstico contendo solução de hipoclorito de sódio a 0,5% de cloro ativo. O material foi triturado por 20 s na velocidade mínima do liquidificador, formando uma massa triturada. Feito esse procedimento, verteu-se a suspensão em peneiras de 100 e 500 mesh, respectivamente, sobrepostas. Com o auxílio de uma pisseta de água, recolheu-se o resíduo da peneira de 500 mesh, depositando-o em um copo de béquer. A suspensão foi calibrada para conter 500 ovos e juvenis de 2° estádio de *Meloidogyne* spp. por mL e 100 juvenis e/ou adultos de *Pratylenchus brachyurus* por mL.

3.2 Inoculação dos fitonematoides

Copos plásticos com capacidade para 500 mL foram preenchidos com a mistura de solo:areia, na proporção de 1:2. Em cada copo plástico foram semeadas quatro sementes de

cada híbrido de milho a uma profundidade de 2 cm. Após germinação e emergência das plântulas de milho foi feito o desbaste, deixando apenas uma plântula por vaso. Dez mililitros da suspensão de nematoides foram colocados em três orifícios feitos no solo ao redor da haste da planta.

Durante a condução do ensaio, as plantas foram regadas diariamente, e receberam semanalmente solução nutritiva adicionada ao solo.

3.3 Avaliação da população dos nematoides

A avaliação da população de cada nematoide foi baseada na determinação da população do nematóide no solo de cada vaso e nas raízes do milho após 75 dias da inoculação.

3.3.1 População dos nematoides no solo

Para a determinação da população de nematoides no solo em cada copo plástico, foi feito o processamento de uma alíquota de 150 cm³ de solo pela técnica da flutuação centrífuga em solução de sacarose (JENKINS, 1964). Essa alíquota de 150 cm³ foi adicionada em um balde que recebeu 2 L de água, para que os torrões existentes fossem desmanchados, e os nematoides presentes ficassem livres em suspensão. Feito isso, agitou-se a mistura, que depois ficou em repouso por 15 s. A suspensão então passou por duas peneiras, sendo uma de 20 mesh sobreposta à outra de 400 mesh. Os resíduos grosseiros da peneira de 20 mesh foram descartados, enquanto que o resíduo da peneira de 400 mesh foi recolhido para um copo com o auxílio de jatos de água de uma pisseta. A suspensão foi distribuída em tubos de centrífuga e centrifugada por 5 min a 650 gravidades. Feito isso, prosseguiu-se com o descarte do sobrenadante e com a adição de solução de sacarose (450 g de açúcar para cada litro de água) ao resíduo presente em cada tubo, realizando-se a mistura e resultando novamente na formação da suspensão. Centrifugou-se, por 1 min, na mesma velocidade anteriormente utilizada. Novamente, os tubos foram retirados da centrífuga, e o sobrenadante de tubo foi vertido na peneira de 500 mesh em posição inclinada e o excesso de sacarose foi lavado com água da torneira. Recolheu-se o resíduo dessa peneira, e foi feita a análise da suspensão, através da contagem de ovos e juvenis de segundo estádio de *Meloidogyne* spp. ou de juvenis e/ou adultos de Pratylenchus brachyurus no solo, com o auxílio da câmara de contagem de Peters.

3.3.2 População dos nematoides nas raízes

Para avaliação dos nematoides presentes nas raízes de milho, cortou-se a parte aérea da planta, coletou-se a raiz, separando-a do solo. Depois, as raízes foram pesadas e processadas pela técnica do liquidificador doméstico (BONETI; FERRAZ, 1981). Com a suspensão obtida, foi feita a avaliação da população de ovos e juvenis de segundo estádio de *Meloidogyne* spp. e de juvenis e/ou adultos de *Pratylenchus brachyurus* nas raízes, com o auxílio da câmara de contagem de Peters.

3.3.3 Fator de reprodução

A determinação do fator de reprodução (FR) foi feita pela razão entre a população final (solo + raízes) e a população inicial (inóculo inicial) para cada fitonematoide estudado.

3.4 Análise estatística

Os dados obtidos foram utilizados para o cálculo do intervalo de confiança para as médias de FR com 95% de confiança.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Pelos resultados apresentados na Tabela 1, observa-se que todos os híbridos de milho apresentaram FR maior que 1, comportando como bons hospedeiros aos três nematoides testados. O híbrido 30A25Hx apresentou valor médio de FR menor que 1 (0,86) para *Meloidogyne incognita*, mas o seu intervalo de confiança varia de 0,47 a 1,25, podendo ser mau ou bom hospedeiro.

Tabela 1 - Fator de reprodução¹ de *Meloidogyne incognita*, *M. javanica* e *Pratylenchus brachyurus* em híbridos de milho, após 60 dias da inoculação de cada fitonematoide, sob condições de casa de vegetação. UFU, Uberlândia, março a maio de 2011.

| Híbridos de milho | M. incognita | M. javanica | P. brachyurus |
|-------------------|----------------------|--------------------|-------------------|
| 30A37 P:C3C | $2,24^2 (0,15-4,34)$ | 5,31 (0,59-10,04) | 5,36 (2,02-8,70) |
| 30A68 P:28 | 4,38 (0-9,67) | 7,45 (1,09-13,81) | 2,95 (0-5,93) |
| 30A86 P:C2M | 5,09 (0,95-9,23) | 4,49 (1,07-7,92) | 2,68 (0-6,32) |
| 30A91 P:RC2 | 2,61 (0-2,46) | 2,81 (0,52-5,11) | 3,66 (1,55-5,77) |
| 30A95 P:C2M | 1,23 (0-2,46) | 2,48 (1,62-3,34) | 1,54 (0,37-2,71) |
| 2B280 P:18R | 2,80 (0-6,44) | 7,67 (4,20-11,15) | 2,16 (1,02-3,31) |
| 2B655 P:C1C | 2,54 (0,80-4,29) | 2,21 (0,85-3,57) | 3,00 (0,08-5,91) |
| 2B280Hx P:20 | 4,37 (0,98-7,76) | 2,67 (0,36-4,99) | 3,47 (0,89-6,05) |
| 2B433Hx P:S/P | 3,05 (2,00-4,10) | 4,48 (0-9,12) | 4,06 (0,33-7,79) |
| 2B512Hx P:S/P | 2,60 (1,03-4,17) | 4,82 (1,60-8,05) | 5,29 (1,94-8,64) |
| 2B587Hx P:C2M | 1,63 (0,09-3,16) | 2,01 (0-4,38) | 2,51 (0,77-4,26) |
| 2B604Hx | 3,46 (0,80-6,13) | 8,78 (3,04-14,52) | 1,29 (0,18-2,39) |
| 2B655Hx P:RC3 | 1,62 (0-3,78) | 4,53 (0-9,22) | 4,20 (0,90-7,59) |
| 2B688Hx P:C2M | 3,59 (0,91-6,27) | 2,98 (0,16-5,80) | 3,02 (1,14-4,91)) |
| 2B707Hx P:C3C | 2,44 (0,26-4,61) | 3,68(1,26-6,10) | 2,17 (0,67-3,67 |
| 2B710Hx | 3,08 (1,35-4,80) | 2,34 (0,35-4,33) | 1,80 (0,37-3,23) |
| 2A550Hx | 1,11 (0,45-1,76) | 1,46 (0-2,98) | 2,24 (0,80-3,67) |
| 20A78Hx P:S/P | 1,91 (0,81-3,00) | 3,97 (1,13-6,82) | 1,81 (0,08-3,54) |
| 20A55Hx P:C2M | 2,33 (0,99-3,68) | 2,40 (0,41-4,39) | 3,29 (0,35-6,23) |
| 30A25Hx P:20R | 0,86 (0,47-1,25) | 3,00 (1,71-4,30) | 1,75 (0,33-3,17) |
| 30A37Hx P:S/P | 3,87 (0,03-7,72) | 10,29 (7,41-13,17) | 4,56 (0,98-8,15) |
| 30A77Hx P:18R | 5,54 (2,08-9,00) | 9,16 (3,26-15,07) | 1,81 (0,42-3,20) |
| 30A86Hx P:C2M | 2,08 (0-4,37) | 6,12 (1,97-10,28) | 2,57 (0,96-4,18) |
| 30A91Hx P:RC2 | 2,44 (0-6,02) | 1,27 (0,34-2,21) | 2,61 (0,76-4,45) |
| 30A95Hx P:22 | 2,79 (0-5,89) | 1,45 (0,13-2,76) | 3,92 (1,03-6,81) |

¹ Fator de reprodução maior ou igual a 1 corresponde a um bom hospedeiro do nematoide. Quando o fator for menor que 1 corresponde a um mau hospedeiro do nematoide.

Em experimento, conduzido pela Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (2011), o fator de reprodução de *M. incognita*, *M. javanica* e *P. brachyurus* em 28 cultivares

² Médias com limites inferior e superior entre parênteses. Intervalo com 95% de confiança.

de milho no ano agrícola de 2010/2011. Dentre as cultivares testadas, 10 coincidiram com as utilizadas no presente trabalho, sendo eles 2B587Hx, 2B433Hx, 30A95Hx, 30A25Hx, 2B707Hx, 30A91Hx, 2B604Hx, 30A86Hx, 20A55Hx e 2B512Hx. Dentre essas cultivares, os resultados não foram similares para os híbridos : 2B587Hx, que no experimento feito pela EPAMIG comportou-se como um mau hospedeiro de *M. javanica*, enquanto que no presente trabalho foi bom hospedeiro; 30A25Hx, que nesse trabalho obteve fator de reprodução menor que 1, enquanto que nos testes da EPAMIG obteve fator de reprodução maior que 1.

A Embrapa (2010) listou vários híbridos de milho com resistência aos nematoides das galhas. Para áreas infestadas por *M. javanica*, os híbridos de milho A 2288, A 2555, AG 3010, AG 5011, AG 6018, AG 9020, AG 9090, DKB 215, DKB 747, DOW 657, DOW 2A120, DOW 2C577, DOW 8460, DOW 8480, Speed, Fort, Pointer, Tork, Master, Exeler, Tractor, Plemium, Avant, Flash, P 30F88, P 3027, P 30F33, P 30F80, P 32R21, P 3081, P 3071, SHS 4070, SHS 4080, SHS 7070, NB 7302, NB 7361 (Somma) e Maximus foram relacionados. Já em áreas com a presença de *M. incognita*, AG 9090, BRS 2114, DOW 657, DOW 2C577, DOW 2A120, NB 7361 (Somma), P 30F80, P 30F33, P 3027, SHS 4080, SHS 7070, dentre outros foram os híbridos de milho indicados para semeadura. Nenhum dos híbridos testados no presente trabalho apareceu nessas relações.

Em trabalho realizado por Wilcken et al. (2006), todos os híbridos testados foram suscetíveis a *M.incognita*. Entretanto, quando testaram esses materiais com *M. javanica*, observou-se padrão de resistência em vários híbridos. Já na pesquisa realizada por Manzotte et al. (2002), vários híbridos foram inoculados com *M. javanica*, apresentando FR menor que 1, comportando-se como maus hospedeiros. Em Ribeiro et al. (2002), dos materiais testados, a maioria comprtou-se como resistente a *M.* javanica, enquanto que para *M. incognita*, todos os materiais foram suscetíveis.

5 CONCLUSÕES

A partir dos dados obtidos, conclui-se que, excetuando-se o híbrido 30A25Hx no caso de *M. incognita*, os genótipos testados foram bons hospedeiros aos três fitonematoides.

REFERÊNCIAS

AGROFIT 2011. Disponível em:

http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 18 set 2011.

AGRIANUAL 2009. FNP. Consultoria e comércio. **Anuário da agricultura brasileira**. São Paulo, 2009. 497 p.

AYALA-OSUNA, J. T. **Genética e melhoramento do milho tropical:** propostas para aumentar a produtividade. Feira de Santana: Universidade Estadual de Feira de Santana, 2001. 15 p.

BONETI, J. I.S.; FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exígua* de raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v.6, n.3, p.553,1981.

CONAB 2011. **Acompanhamento da safra brasileira:** grãos, décimo segundo levantamento, setembro 2011. Safra 2010/2011, Brasília. Disponível em: < http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/11_09_19_09_49_47_boletim_setembr o-2011..pdf>. Acesso em: 15 set 2011.

COSTA, R. V.; CASELA, C. R.; COSTA, L. V. **Cultivo do Milho.** 6.ed. 2010. Disponível em: <

http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Milho/CultivodoMilho_6ed/doenc as.htm#005 >. Acesso em: 03 nov. 2011

DUARTE, J. O. **Cultivo do Milho.** Sistema de Produção, 1. Disponível em: http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Milho/CultivodoMilho/importancia.htm>. Acesso em: 09 mar. 2011.

DUARTE, J. O. **Cultivo do Milho.** 2.ed. Dez. 2006. Disponível em: < http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Milho/CultivodoMilho_2ed/merc ado.htm>. Acesso em: 12 mar. 2011.

DUARTE, J. O.; CRUZ, J. C.; GARCIA, J. C.; MATTOSO, M. J. Cultivo do Milho. 2.ed. Dez. 2006. Disponível em:<

http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Milho/CultivodoMilho_2ed/econo mia.htm>. Acesso em: 12 mar. 2011.

EMBRAPA 2003. **Tecnologias de Produção de Soja Região Central do Brasil 2003.** Jan 2003. Disponível em: <

http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Soja/SojaCentralBrasil2003/doen ca.htm>. Acesso em: 01 nov. 2011.

EPAMIG. Ensaio estadual de cultivares de milho Minas Gerais: ano agrícola 2010/2011. Uberaba: EPAMIG. 2011. 55p.

GOODMAN, M. M.; SMITH, C. S. J. **Melhoramento e produção do milho no Brasil.** Campinas: Fundação Cargill, 1987, 644 p.

JENKINS, W. R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter**, Washington, DC, v. 48, n. 9, p. 692, Sept 1964.

LORDELLO, L.G.E. **Nematóides das plantas cultivadas.** 7ª.ed São Paulo: Nobel, 1982. 314 p.

LORDELLO, R. R. A.; LORDELLO, A. I. L.; SAWAZAKI, E.; TREVISAN, W. L. Nematóide das galhas danifica lavoura de milho em Goiás. **Nematologia Brasileira**, Campinas, v. 10, p. 146-149,1986.

MANZOTTE, U.; DIAS, W. P.; MENDES, M. L.; SILVA, J. F. V.; GOMES. J. Reação de híbridos de milho a *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, Londrina, v. 26, p. 105-108, 2002.

PINTO, N. F. J. A. **Cultivo do Milho**, 2.ed. Dez. 2006. Disponível em: http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Milho/CultivodoMilho_2ed/doencasnematoides.htm. Acesso em: 17 mar. 2011.

RIBEIRO, N. R.; CRAVEIRO. A.G.; SILVA J. F. V.; FRANCISCO. A.; GOMES. J.; MEIRELLES. W. F. Avaliação de genótipos de milho (*Zea mays*) aos nematóides *Meloidogyne javanica* e *M. incognita* raça 3. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 24. Florianópolis. 2002. **Anais...** Sete Lagoas: EMBRAPA. 2002. p. 28-31.

SAWAZAKI, E.; LORDELLO, A. I. L.; LORDELLO, R. R. A. Herança da resistência de milho a *Pratylenchus* spp. **Bragantia**, Campinas, v. 46, p. 28-33, 1987.

SISTEMAS DE PRODUÇÃO 14. EMBRAPA. **Tecnologias de produção de Soja – Região Central do Brasil 2011.** Outubro, 2010. Disponível em: < http://www.cnpso.embrapa.br/download/Sistema_Producao14_VE.pdf>. Acesso em: 09 nov. 2011.

TIHOHOD, D. Nematologia agrícola aplicada. 2.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 473 p.

WILCKEN, S. R. S.; FUKAZAWA, R. M.; ROSA, J. M. O.; JESUS, A. M; BICUDO, S. J. Reprodução de *Meloidogyne incognita* Raça 2 e *M. javanica* em genótipos de milho em condições de casa-de-vegetação. **Nematologia Brasileira**, Brasília, DF, v. 30, p. 35 a 38, 2006.