

# Avaliação da resistência de 12 híbridos de milho a Pratylenchus brachyurus

## Mário M. Inomoto

Departamento de Entomologia, Fitopatologia e Zoologia Agrícola, Universidade de São Paulo, ESALQ, 13418-900, Piracicaba, SP, Brasil

Autor para correspondência: Mário M. Inomoto, e-mail: mminomot@esalq.usp.br

#### **RESUMO**

O nematoide-das-lesões, *Pratylenchus brachyurus*, é atualmente responsável por elevadas perdas na cultura da soja no Brasil. O uso de milho em rotação, ou sucessão, com soja tem sido recomendado no manejo do nematoide, porém há poucos híbridos resistentes a *P. brachyurus*. Em função do quadro exposto, dois experimentos foram conduzidos em casa de vegetação, com o propósito de avaliar a resistência de 12 híbridos de milho a *P. brachyurus*. Nenhum dos híbridos se mostrou resistente a *P. brachyurus*, porém P30K75, DKB-330, AG-7088, DKB-350 e AG-7000 foram moderadamente resistentes. Portanto, o híbrido P30K75, usualmente considerado resistente a *P. brachyurus*, deveria ser reclassificado como moderadamente resistente. Dois experimentos adicionais foram efetuados; um deles para avaliar o efeito de dois períodos experimentais (70 e 107 dias após a inoculação) na reprodução do nematoide. O período mais longo possibilitou maior reprodução de *P. brachyurus* e deveria ser adotado para a avaliação da resistência de milho a *P. brachyurus*. Em outro experimento, *P. brachyurus* reproduziu-se menos em milheto 'ADR-300' que nos híbridos de milho; portanto, esse híbrido de milheto é melhor opção que o milho para o manejo de *P. brachyurus*.

Palavras-chave: Pennisetum glaucum, Zea mays, manejo, nematoide das lesões, soja.

#### ABSTRACT

### Resistance evaluation of 12 maize hybrids to Pratylenchus brachyurus

Attack by the root-lesion-nematode *Pratylenchus brachyurus* is, presently, the cause of extensive crop losses in soybean yields in Brazil. Rotation with maize has been recommended for *P. brachyurus* management, however only a few resistant maize hybrids are currently available for use in such schemes. Two experiments were carried out in greenhouse conditions in order to evaluate the resistance of 12 maize hybrids to *P. brachyurus*. None of them was entirely resistant to *P. brachyurus*, but P30K75, DKB-330, AG-7088, DKB-350 and AG-7000 were moderately resistant. Thus, the hybrid P30K75, usually considered resistant to *P. brachyurus*, should be reclassified as moderately resistant. Two additional experiments were also performed: one was assessed the effect of two experimental periods (70 and 107 days after inoculation) on nematode reproduction and has indicated that the longer period allowed higher reproduction of *P. brachyurus* and should be preferred in evaluations of maize resistance to *P. brachyurus*; and the other showed that *P. brachyurus*' reproduction was lower in pearl millet 'ADR-300' than in maize hybrids and that, therefore, this pearl millet culvivar is more adequate for rotation schemes with soybean in *P. brachyurus* management than maize.

Key words: Pennisetum glaucum, Zea mays, management, root lesion nematode, soybean.

# INTRODUÇÃO

Uma espécie de nematoide-das-lesões, *Pratylenchus brachyurus* (Godfrey) Filipjev, tem causado expressivas perdas de produção na soja no Estado de Mato Grosso (Yoneya, 2008) e outros estados do Brasil, principalmente em áreas nas quais os solos têm menos de 15% de argila (Dias, 2009). A reação de híbridos de milho a *P. brachyurus* tem sido avaliada com o objetivo de identificar materiais capazes de reduzir a densidade populacional do nematoide, ou seja, com fatores de reprodução (Oostenbrink, 1966) abaixo de 1. Híbridos com tal característica teriam grande valor no manejo de *P. brachyurus*, pois atualmente o milho é a cultura mais utilizada em rotação ou sucessão com a soja no Brasil (Dias, 2009).

Em experimento em casa de vegetação com oito híbridos (P30S40, P30K64, P30F35, P30P70, P30K73, P30F80, P30K75 e P30F90) e população inicial (Pi) de 2.000 indivíduos por parcela, os fatores de reprodução [FR=população final (Pf)/Pi] médios obtidos 60 dias após a inoculação variaram entre 1,31 (P30S40) e 3,43 (P30F80). A exceção foi P30K75, com FR=0,57 (Ribeiro et al., 2007a). É digno de nota que essa característica tem sido explorada comercialmente. Por exemplo, uma das cinco características positivas ("pontos fortes") atribuídas ao híbrido P30K75 é textualmente, conforme as informações da empresa produtora da semente, "baixa taxa de lesões radiculares ocasionadas pelo nematoide *Pratylenchus brachyurus*" (Pioneer Sementes, 2010).

Ribeiro et al. (2007b) avaliaram, em casa de vegetação, a reação de vinte e cinco diferentes genótipos

de plantas, dos quais três híbridos de milho, utilizando a Pi de 600 espécimes por parcela. Após 90 dias, obtiveram FR=2,9 no híbrido P30F80, valor próximo ao verificado por Ribeiro et al. (2007a), e 0,7 em BRS-3123 e BRS-2114. Portanto, poucos híbridos de milho foram testados em relação à resistência a *P. brachyurus* e somente P30K75, BRS-3123 e BRS-2114 apresentaram FR < 1. O objetivo do presente trabalho foi ampliar o conhecimento sobre a resistência de híbridos de milho a *P. brachyurus* por meio de quatro experimentos de casa de vegetação.

# MATERIAL E MÉTODOS

A população de P. brachyurus utilizada nos experimentos foi coletada de raízes de algodoeiro, pela Dra. Rosangela A. Silva (Univag, Várzea Grande, MT), no município Mato-Grossense de Itiquira e mantido em casa de vegetação alternadamente em plantas de milho, quiabo, feijão, sorgo e soja. Indivíduos da população foram periodicamente extraídos das raízes para exame sob microscopia óptica e confirmação da identidade da espécie com base em características morfológicas (Handoo & Golden, 1989). Além disso, Machado et al. (2007) já haviam efetuado a diagnose molecular de amostra dessa população, designada Pb24, utilizando primer específico para P. brachyurus. O inóculo utilizado nos experimentos era constituído de suspensão aguosa obtida por processamento das raízes pelo método de Baermann modificado para recipiente raso (Hooper, 1986). Nos experimentos 1, 2 e 3, a população inicial (Pi) foi de 200 espécimes (fêmeas e juvenis) por parcela; no experimento 4 a Pi foi de 120 espécimes. As parcelas eram compostas de plântulas de milho obtidas por semeadura direta em copos plásticos de 500 cm<sup>3</sup> contendo 400 cm<sup>3</sup> de solo médio-argiloso (seis sementes por copo; 68% de areia, 4% de silte e 28% de argila; pH 7,0; 11 g/kg de matéria orgânica) desinfestado por calor úmido. Após germinação, manteve-se uma plântula por copo, desbastando-se as demais. O delineamento foi inteiramente ao acaso, com dez tratamentos e quatro repetições no experimento 1, oito tratamentos e seis repetições no experimento 2, quatro tratamentos e seis repetições no experimento 3 e cinco tratamentos e seis repetições no experimento 4.

No experimento 1, avaliou-se a resistência de oito híbridos, AG-7000, AG-7088, AG-9010, DKB-177, DKB-330, DKB-350, DKB-390 e P30K75, pela comparação entre seus valores das variáveis FR e Nem/g (nematoides por grama de raízes) com os de soja [Glycine max (L.) Merrill]. 'BRS-133' e de Crotalaria spectabilis Roth., respectivamente boa e má hospedeira de P. brachyurus (Ribeiro et al., 2007b). A crotalária foi semeada em 17/04/2007 e a germinação ocorreu em 21/04. A soja e o milho foram semeados em 24/04 (germinação da soja em 26/04 e do milho em 28/04). A crotalária foi semeada antes da soja e do milho por apresentar crescimento lento e demandar mais tempo para produzir quantidade adequada de raízes para receber

o inóculo do nematoide, conforme experiência anterior do autor deste trabalho. O inóculo foi incorporado ao solo em 04/05/2007, pela pipetagem de 2 mL da suspensão contendo 200 espécimes de P. brachyurus. As parcelas foram mantidas em casa de vegetação até 02/09/2007 (121 dias após inoculação), data em que se efetuou a extração dos nematoides do solo (Jenkins, 1964) e das raízes (Coolen & D'Herde, 1972). Calculou-se o fator de reprodução (FR) de P. brachvurus em cada parcela dividindo-se a soma da Pf no solo com a Pf nas raízes pela Pi (200). Embora a variável FR seja adequada para a avaliação da resistência de plantas a P. brachvurus, não pode ser obtida em trabalhos de campo, pois as estimativas de Pi são imprecisas nessas condições. Por essa razão, calculou-se também a variável Nem/g, visto que esta pode ser obtida em trabalhos de campo, dividindose a densidade obtida das raízes pela massa de raízes em cada parcela. Os dados de FR e Nem/g foram transformados para Ln x e submetidos à análise de variância; as médias foram comparadas pelo teste de Tukey. Posteriormente, estimou-se o coeficiente de correlação linear entre Nem/g e FR dos milhos testados. As temperaturas máxima e mínima do solo foram registradas diariamente, durante o período experimental (entre a inoculação e a avaliação). A média das máximas foi de 30,3°C e a média das mínimas, 12,3°C.

No experimento 2, foram testados seis híbridos (DKB-390, FTH-510, FTH-900, FTH-960, P30K75 e SM-511) com período experimental de 123 dias após inoculação (135 dias após a semeadura do milho). O procedimento foi o mesmo descrito no experimento 1, porém em período mais quente (inoculação em 27/10/2008 e avaliação em 27/02/2009; média das temperaturas máximas do solo = 35,3°C e das mínimas = 20,4°C). Os híbridos DKB-390 e P30K75 foram testados novamente porque apresentaram respectivamente o maior e o menor FR no experimento 1.

Os FR obtidos nos experimentos 1 e 2 foram muito mais elevados que os relatados em trabalhos anteriores sobre a reação de milhos a P. brachyurus. Para verificar o efeito da duração do experimento sobre a reprodução de P. brachyurus em milho, realizou-se o experimento 3, em que foram testados três híbridos de milho, dos quais AG-7000 e DKB-330 foram moderadamente resistentes segundo o experimento 1 e FTH-960 suscetível segundo o experimento 2, e dois períodos experimentais entre a inoculação e a avaliação. O período de 70 dai (15/7 a 23/9/2009; média das máximas do solo = 32,9°C e média das mínimas = 15,2 °C) foi escolhido por ser intermediário entre os 60 dias utilizados Ribeiro et al. (2007a) e os 90 dias por Ribeiro et al. (2007b). O outro período utilizado, de 107 dai (15/7 a 30/10/2009; média das máximas do solo = 33,4°C e média das mínimas = 15,6), foi menor que os dos experimentos 1 e 2 porque no experimento 3 as sementes apresentaram germinação desuniforme e baixo vigor, razão pela qual a semeadura do milho foi concomitante com a de crotalária (em 23/06/2009) e foram necessários 22 dias após a semeadura para se efetuar a inoculação (em 15/07/2009).

No experimento 4, compararam-se os FR e os números de nematoides/grama de raízes (Nem/g) encontrados nos híbridos DKB-390 e AG-7088, classificados nos experimentos 1, 2 e 3 como, respectivamente, suscetível e moderadamente resistente a *P. brachyurus*, com aqueles valores obtidos para o milheto [*Pennisetum glaucum* (L.) R. BR.] 'ADR-300'. A semeadura foi efetuada em 23/06/2009, o desbaste em 01/07/2009, a inoculação em 17/07/2009 e a avaliação em 10/11/2009 (116 dai). A média das temperaturas máximas foi de 33,2°C e, a média das temperaturas mínimas 16,0°C entre a inoculação e a avaliação.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nenhum híbrido testado nos experimentos 1 e 2 foi considerado resistente a *P. brachyurus*, pois: (a) os FR de todos foram maiores que 1; (b) os FR nos híbridos foram estatisticamente iguais àqueles na soja; (c) os FR foram maiores que aqueles encontrados em *C. spectabilis*. Apesar disso, os híbridos testados apresentaram diferenças entre si. No experimento 1, o híbrido DKB-390 foi considerado suscetível por apresentar o maior FR; P30K75, DKB-330, AG-7088, DKB-350 e AG-7000, moderadamente resistentes por apresentarem FR maiores que 1, mas menores que aquele encontrado no híbrido DKB-390. Por outro lado, os híbridos DKB-177 e AG-9010 não se mostraram diferentes entre si e dos demais híbridos, portanto não foram perfeitamente caracterizados (Tabela 1).

No experimento 2, formaram-se, igualmente, três grupos: SM-511, FTH-960 e DKB-390 foram considerados suscetíveis; P30K75, moderadamente resistente; FTH-510 e FTH-900 foram estatisticamente equivalentes e não diferiram de outros híbridos, razão pela qual não foram caracterizados (Tabela 2). Portanto, embora a literatura registre P30K75 como resistente a *P. brachyurus* (Ribeiro

**TABELA 1** – Reprodução de *Pratylenchus brachyurus* em soja, *Crotalaria spectabilis* e híbridos de milho aos 121 dias após a inoculação com população inicial de 200 fêmeas e juvenis

	FR	FR Nem/g	
Milho 'DKB-390'	15,40 a	82,75 ab	
Milho 'DKB-177'	8,27 ab	34,75 bc	
Milho 'AG-9010'	8,15 ab	37,00 bc	
Soja 'BRS-133'	8,00 ab	198,76 a	
Milho 'AG-7000'	5,27 b	31,50 bc	
Milho 'DKB-350'	5,20 b	22,50 c	
Milho 'AG-7088'	4,98 b	28,25 c	
Milho 'DKB-330'	4,65 b	23,25 c	
Milho 'P30K75'	4,03 b	36,75 bc	
Crotalaria spectabilis	0,15 c	1,75 d	

<sup>1</sup>Média de quatro repetições; médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

TABELA 2 – Reprodução de *Pratylenchus brachyurus* em soja, *Crotalaria spectabilis* e híbridos de milho aos 123 dias após a inoculação com população inicial de 200 fêmeas e juvenis

	FR	Nem/g	
Milho 'SM-511'	77,32 a	236,63 ab	
Milho 'FTH-960'	53,46 a	161,50 abc	
Milho 'DKB-390'	37,65 a	203,13 abc	
Soja 'Pintado'	30,61 ab	426,60 a	
Milho 'FTH-900'	28,30 ab	79,14 bc	
Milho 'FTH-510'	23,96 ab	90,36 bc	
Milho 'P30K75'	8,23 b	51,50 c	
Crotalaria spectabilis	0,36 c	1,51 d	

<sup>1</sup>Média de seis repetições; médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

et al., 2007a), os presentes resultados indicam que este híbrido deve ser reclassificado como moderadamente resistente, devido aos FR>1 (4,03 no experimento 1 e 8,23 no 2) e estatisticamente iguais ao FR do nematoide na soja 'BRS-133'.

Destaca-se que os FR obtidos nos experimentos 1 e 2 foram mais elevados que os relatados em trabalhos anteriores. Uma possível razão para essa diferença foi a duração do período experimental desde a inoculação até a avaliação, que compreendeu 121-123 dias nos experimentos do presente trabalho, mas 60 e 90 dias no de Ribeiro et al. (2007a) e de Ribeiro et al. (2007b), respectivamente.

No experimento 3, os híbridos não se diferenciaram na avaliação realizada aos 70 dias, mas foi possível classificar DKB-330 como moderadamente resistente a P. brachvurus aos 107 dias. O FR no híbrido DKB-330 foi maior que 1, inferior àquele no híbrido FTH-960 e igual ao encontrado em C. spectabilis (Tabela 3). O FR encontrado no híbrido AG-7000 não se diferenciou daqueles observados nos híbridos FTH-960 e DKB-330, na avaliação aos 70 dias. Portanto, a avaliação tardia foi útil para diferenciar o híbrido suscetível (FTH-960) de DKB-330, confirmado como moderadamente resistente. Além disso, possibilitou dimensionar o crescimento populacional de P. brachvurus causado pelos híbridos de milho. Obteve-se FR=1,89 no milho FTH-960 aos 70 dias, o que indica que este não foi favorável para um aumento expressivo da densidade do nematoide. Porém, o FR=46,73 aos 107 dias, provavelmente, expressa mais fidedignamente o efeito desse híbrido na densidade de P. brachyurus, pois o ciclo cultural do milho, desde a semeadura até a colheita dos grãos, é de 120-140 dias (Embrapa Milho e Sorgo, 2010). A partir desse raciocínio, sugere-se que as indicações de híbridos de milho para o manejo de P. brachyurus sejam efetuadas com base em avaliações efetuadas aos 120-140 dias após a semeadura, o que corresponde a 110-130 dai, se a inoculação for realizada entre 10 e 25 dias após a semeadura, como nos experimentos do presente trabalho.

**TABELA 3** - Reprodução de *Pratylenchus brachyurus* em *Crotalaria spectabilis* e híbridos de milho aos 70 e 107 dias após a inoculação com população inicial de 200 fêmeas e juvenis

	]	FR	Ne	m/g
	70 dias	107 dias	70 dias	107 dias
Milho 'FTH-960'	1,89 ab	46,73 a	14,0 a	246,2 a
Milho 'AG-7000'	3,17 a	19,81 ab	13,8 a	90,1 ab
Milho 'DKB-330'	1,07 abc	3,06 bc	5,7 a	14,1 bc
Crotalaria spectabilis	0,26 c	0,27 c	4,7 a	5,14 c

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Média de seis repetições; médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

**TABELA 4** – Reprodução de *Pratylenchus brachyurus* em soja, *Crotalaria spectabilis*, milheto e dois híbridos de milho aos 116 dias após a inoculação com população inicial de 120 fêmeas e juvenis

FR	Nem/g
31,84 a	155,1 a
16,55 ab	502,5 a
12,18 b	36,1 b
0,98 c	6,9 c
0,26 c	1,8 d
	31,84 a 16,55 ab 12,18 b 0,98 c

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Média de seis repetições; médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

No experimento 4, confirmou-se que o híbrido DKB-390 é suscetível e AG-7088 é moderadamente resistente a *P. brachyurus*. O FR de *P. brachyurus* no milheto 'ADR-300' foi menor que aqueles registrados nos milhos testados e igual àquele em *C. spectabilis* (Tabela 4). Em experimento com avaliação 67 dai, o FR de *P. brachyurus* em milheto 'BN-2' foi de 0,43, estatisticamente menor que em milho 'BRS-206' (FR=4,57). Porém, em três experimentos com avaliações aos 52, 59 e 67 dai, o FR em milheto 'BRS-1501' variou entre 1,02 e 2,10 - estatisticamente igual ao FR em milho em um dos experimentos e inferior nos demais (Inomoto et al., 2006). Estes resultados demonstram a diversidade genética do milheto quanto à hospedabilidade a *P. brachyurus*.

A comparação com o milheto é importante porque ele é muito utilizado no Brasil. Segundo Assis et al. (2009), atualmente, quatro milhões de hectares são cultivados com milheto no País, seja para cobertura vegetal do solo, produção de forragem, silagem e grãos ou para o manejo de várias espécies de fitonematoides (Santos & Soares, 2009). Ribeiro et al. (2007b) obtiveram 0,2 como FR de *P. brachyurus* na cultivar ADR-300, qualificando-o como adequado para o manejo dessa espécie de nematoide. Em outro trabalho, valores mais elevados de FR (0,7 e 1,6) foram obtidos para este milheto, porém sempre inferiores aos FR das demais poáceas testadas (Inomoto & Asmus, 2010).

A correlação entre as variáveis Nem/g e FR dos híbridos de milho foi elevada e significativa pelo teste t a

0,1% de probabilidade: 0,915 (t=12,44) no experimento 1, 0,894 (t=11,08) no experimento 2, 0,863 (t=4,29) no experimento 3/70 dias, 0,969 (t=17,57) no experimento 3/107 dias e 0,958 (t=10,51) no experimento 4. Portanto, a variável Nem/g pode ser utilizada para avaliação da resistência de milhos a *P. brachyurus*. Como desvantagem, embora a variável Nem/g permita comparar os tratamentos entre si, não possibilita a identificação dos materiais resistentes. Fica claro, ainda, que a variável Nem/g não pode ser utilizada para comparação de espécies ou mesmo cultivares que apresentam grandes diferenças no tamanho de raízes. Por exemplo, incluindo-se soja, milheto e *C. spectabilis*, o coeficiente de correlação entre Nem/g e FR no experimento caiu para o valor de 0,448.

Em suma, somente foram identificados milhos suscetíveis e moderadamente resistentes a *P. brachyurus*. Mesmo considerando que os híbridos de milho testados neste trabalho representem pequena fração do material genético comercial atualmente disponível, os resultados são fortes indicativos de que o milho não deve ser utilizado para o manejo de *P. brachyurus*. O milho 'P30K75', considerado anteriormente altamente resistente a *P. brachyurus*, foi testado duas vezes sem confirmação desse atributo. O milheto 'ADR-300' se apresentou melhor que o milho para o manejo de *P. brachyurus*.

### **AGRADECIMENTOS**

O autor agradece à laboratorista Sônia Regina Antedomênico pelo suporte técnico na realização deste trabalho.

# REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Assis RL, Braz AJBP, Silva AG (2009) Produção de palhada, descompactação do solo e ciclagem de nutrientes com o uso dos milhetos Adr's. InteRural 27:30-31.

Coolen WA, D'Herde CJ (1972) A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. State Nematology and Entomology Research Station. Ghent Belgium.

Dias WP (2009) Defesa vulnerável. Cultivar 122:18-20.

Embrapa Milho e Sorgo (2010) Irrigação – culturas do milho, sorgo e milheto irrigados. www.cnpms.embrapa.br/irriga/ajudairriga. html#

## M.M. Inomoto

Handoo ZA, Golden MA (1989) A key and diagnostic compendium to the species of the genus *Pratylenchus* Filipjev. Journal of Nematology 21:202-218.

Hooper DJ (1986) Extraction of free-living stages from soil. In: Southey JF (Ed.) Laboratory methods for work with plant and soil nematodes. London UK. Her Majesty's Stationery Office. pp. 5-30.

Inomoto MM, Asmus GL (2010) Host status of graminaceous cover crops for *Pratylenchus brachyurus*. Plant Disease 8:1022-1025.

Jenkins WR (1964) A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. Plant Disease Reporter 48:692.

Machado ACZ, Ferraz LCCB, Oliveira CMG (2007) Development of a species-specific reverse primer for the molecular diagnosis of *Pratylenchus brachyurus*. Nematropica 37:248-257.

Oostenbrink R (1966) Major characteristics of the relation between nematodes and plants. Mededelingen Landbouwhogeschool 66:1-46.

Pioneer Sementes (2010) Híbridos de milho – 30K75. www. pioneersementes.com.br/ ProdutosDetalheMilho.aspx?id=20

Ribeiro GC, Neves DL, Campos HD, Silva LHCP, Silva JCR (2007a) Reação de híbridos de milho ao nematóide das lesões radiculares (*Pratylenchus brachyurus*). Nematologia Brasileira 31:151 (Resumo).

Ribeiro NR, Dias WP, Homechin J, Silva JFV, Francisco A (2007b) Avaliação da reação de espécies vegetais ao nematóide das lesões radiculares. Resumos da XXIX Reunião de Pesquisa de Soja da Região Central do Brasil. Campo Grande MS. pp. 64-65.

Santos JM, Soares PLM (2009) O papel dos genótipos Adr's no manejo de nematoides em sistemas de culturas anuais e na recuperação de pastagens degradadas. InteRural 27:38-41.

Yoneya F (2008) Soja: rotação contra nematoides. O Estado de São Paulo. www.estadao.com.br/noticias/suplementos,soja-rotacao-contra-nematoides,120312,0.htm

TPP 193 - Recebido 13 Outubro 2010 - Aceito 7 Dezembro 2011 Editor de Seção:Rosângela D'Arc Lima