

## Avaliação de métodos de inoculação de *Macrophomina phaseolina* em plantas de milho

Evaluation of *Macrophomina phaseolina* inoculation methods in maize plants

Maria Eduarda Sardinha Nascimento<sup>1</sup>  
Maycom Antônio Gonçalves Buratti<sup>2</sup>  
Lorrany Ribeiro Dias<sup>3</sup>  
Glória Esthefanny Rodrigues<sup>4</sup>  
Agnelia Luiza Pereira Costa<sup>5</sup>  
Micaele Rodrigues de Souza<sup>6</sup>

### Resumo

A cultura do milho (*Zea mays*) é de extrema importância mundial, caracterizada como uma das culturas mais produzidas. No Brasil, pode ser cultivado na safra de verão ou na safrinha. Entretanto, o seu cultivo enfrenta diferentes desafios, observados por doenças como a podridão do carvão, causada por *Macrophomina phaseolina*. A *M. phaseolina* afeta a qualidade e a quantidade dos grãos de milho e o seu controle é um desafio, pois medidas como rotação de cultura e produtos químicos são ineficazes, e informações sobre a resistência genética de híbridos de milho são escassas. Dessa maneira, determinar o método de inoculação de *M. phaseolina* é crucial para o desenvolvimento de estratégias eficazes de controle da doença. O experimento foi conduzido em delineamento em blocos inteiramente casualizados (DBC), com quatro repetições e seis tratamentos: com testemunhas e níveis de inoculação do fungo *M. phaseolina* em diferentes entrenós do colmo do milho (3º, 5º e 7º entrenós). Os palitos de madeira utilizados foram previamente fervidos, autoclavados e imersos em meio BDA

<sup>1</sup> Afya Faculdade Porto Nacional. Porto Nacional – Tocantins – Brasil. <https://orcid.org/0009-0001-3858-7092>

<sup>2</sup> Afya Faculdade Porto Nacional. Porto Nacional – Tocantins – Brasil. <https://orcid.org/0009-0004-7262-6683>

<sup>3</sup> Afya Faculdade Porto Nacional. Porto Nacional – Tocantins – Brasil. <https://orcid.org/0009-0004-7270-1778>

<sup>4</sup> Afya Faculdade Porto Nacional. Porto Nacional – Tocantins – Brasil. <https://orcid.org/0009-0003-3592-4502>

<sup>5</sup> Afya Faculdade Porto Nacional. Porto Nacional – Tocantins – Brasil. <https://orcid.org/0009-0002-1629-4018>

<sup>6</sup> Afya Faculdade Porto Nacional. Porto Nacional – Tocantins – Brasil. <https://orcid.org/0000-0002-8679-7094>

colonizado pelo patógeno. Cada parcela experimental foi composta por quatro linhas de 5 metros, com espaçamento de 0,5 m entre linhas, totalizando 30 plantas por parcela após desbaste. Seis plantas por parcela foram utilizadas na avaliação (três com palito com fungo e três com palito estéril). Os dados coletados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e, quando significativa, as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott com 5% de probabilidade. Determinou-se a melhor localização de inoculação no colmo de milho, para reproduzir a severidade causada pelo inóculo natural, fornecendo conhecimentos essenciais para futuras pesquisas que poderão auxiliar no controle da *M. phaseolina*.

**Palavras-Chave:** Doenças; Podridão do carvão; *Zea mays*.

## **Abstract**

Corn (*Zea mays*) cultivation is of extreme global importance, characterized as one of the most produced crops. In Brazil, it can be cultivated in the summer crop or in the off-season. However, its cultivation faces different challenges, observed due to diseases such as charcoal rot, caused by *Macrophomina phaseolina*. *M. phaseolina* affects the quality and quantity of corn grains, and its control is a challenge because measures such as crop rotation and chemical products are ineffective, and information on the genetic resistance of corn hybrids is scarce. Therefore, determining the inoculation method of *M. phaseolina* is crucial for the development of effective disease control strategies. The experiment was conducted in a completely randomized block design (CRBD), with four replications and six treatments: with controls and levels of inoculation of the fungus *Macrophomina phaseolina* in different internodes of the corn stalk (3rd, 5th, and 7th internodes). The wooden sticks used were previously boiled, autoclaved, and immersed in PDA medium colonized by the pathogen. Each experimental plot consisted of four 5-meter rows, with 0.5 m spacing between rows, totaling 30 plants per plot after thinning. Six plants per plot were used in the evaluation (three with sticks containing fungus and three with sterile sticks). The collected data were subjected to analysis of variance (ANOVA) and, when significant, the means were compared using the Scott-Knott test with a 5% probability level. The best inoculation location on the corn stalk was determined to reproduce the severity caused by the natural inoculum, providing essential knowledge for future research that may assist in the control of *M. phaseolina*.

**Keywords:** Diseases. Charcoal rot. *Zea mays*.

## **1 INTRODUÇÃO**

A cultura do milho (*Zea mays* L.) apresenta relevância mundial, considerada uma das principais culturas agrícolas do mundo, utilizada para alimentação humana, ração animal e produção de biocombustíveis, além de ser um cultivo importante para a segurança alimentar e para diversos sistemas produtivos agrícolas em escala mundial (DRAVES *et al.*, 2025).

O milho é uma das principais culturas agrícolas do Brasil, com produção nacional de milho na safra 2024/2025 estimada em aproximadamente 126,9 milhões de toneladas, representando aumento de 11,4 milhões de toneladas em relação à safra anterior (126,9 milhões de toneladas na safra 2023/2024) (CONAB, 2025). A cultura é dividida em duas safras: verão (principal) e a safrinha (segunda safra), sendo a segunda adotada no estado do Tocantins, onde o milho figura entre as principais atividades econômicas do setor agrícola (DA COSTA *et al.*, 2019).

A produtividade da cultura do milho enfrenta entraves, como estresses abióticos - como ventos fortes e granizo, que podem causar danos físicos às plantas, assim prejudicar a fotossíntese e aumentar a suscetibilidade a doenças. As pragas também representam uma ameaça significativa à cultura. A lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda*) é considerada a principal praga, a causar danos severos às folhas e colmos das plantas (ZHANG *et al.*, 2024). Outras pragas importantes incluem a lagarta-da-espiga (*Helicoverpa zea*) (ARENDS *et al.*, 2022), o percevejo-barriga-verde (*Dichelops spp.*) (DUARTE *et al.*, 2014) e a cigarrinha-do-milho (*Dalbulus maidis*) (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2024), esta última sendo vetor de doenças como os enfezamentos pálido e vermelho (BIZARI *et al.*, 2024).

As doenças também se apresentam como um fator limitante à produtividade da cultura do milho, podendo comprometer o desenvolvimento das plantas e a qualidade dos grãos em diferentes estádios fenológicos. Dentre as principais doenças foliares, destaca-se a mancha branca, causada por *Phaeosphaeria maydis*, que provoca lesões necróticas e redução da área fotossintética (FERNANDES; OLIVEIRA, 2015). A ferrugem comum, causada por *Puccinia sorghi*, é amplamente distribuída e pode causar perdas significativas em condições favoráveis (COSTA; CASELA; COTA, 2015), assim como a ferrugem polissora (*Puccinia polysora*), considerada mais agressiva em regiões tropicais (LANA; COSTA; COTA, 2018). A helmintosporiose, associada principalmente a *Exserohilum turcicum*, também se destaca por causar lesões foliares extensas e redução da produtividade (FERNANDES; OLIVEIRA, 2007).

Além disso, as podridões do colmo, frequentemente associadas a fungos dos gêneros *Diplodia* e *Fusarium*, comprometem a integridade estrutural das plantas e favorecem o acamamento (SCHURT; COTA; COSTA, 2013). Entre as doenças de colmo com grande impacto, destaca-se ainda a podridão do carvão, causada por *Macrophomina phaseolina*,

caracterizada por sua elevada agressividade e capacidade de sobrevivência no solo (DA COSTA et al., 2019).

A podridão do carvão, causada pelo fungo *M. phaseolina*, é uma das doenças mais severas na cultura do milho devido ao seu elevado potencial destrutivo e à ampla capacidade de sobrevivência do patógeno no solo (MARQUEZ et al., 2021). Esse fungo forma microescleródios, estruturas de resistência que possibilitam sua persistência por longos períodos, o que dificulta adotar estratégias de manejo e seus danos incluem redução do vigor das plantas, necrose radicular, acamamento e perdas expressivas de produtividade (DA COSTA et al., 2019). Entre os sintomas causados por *M. phaseolina* está a desintegração da medula, o que pode gerar o tombamento das plantas (SHIH et al., 2022). Além disso, é possível observar pontos negros e coloração acinzentada nas regiões lesionadas que são causadas pela presença de microescleródios (MADHU et al., 2021).

Além do milho, é um fungo polífago, ou seja, capaz de infectar diferentes espécies de plantas, fazendo com que a rotação de cultura não seja eficiente (DA COSTA et al., 2019). Nesse contexto, torna-se essencial padronizar métodos de inoculação eficientes, que permitam simular adequadamente a infecção natural, possibilitando a avaliação da severidade da doença e contribuindo para estudos futuros sobre resistência genética e estratégias sustentáveis de manejo.

## **2 REVISÃO DA LITERATURA**

A cultura do milho (*Zea mays* L.) possui elevada relevância econômica e alimentar global, sendo amplamente cultivada em regiões tropicais e subtropicais. No entanto, sua produtividade é afetada por doenças fúngicas, entre as quais se destaca a podridão do colmo causada por *Macrophomina phaseolina*, considerada uma das principais limitações fitossanitárias em ambientes com altas temperaturas e déficit hídrico (PEREIRA et al., 2022; DEGANI et al., 2023).

*Macrophomina phaseolina* é um fungo necrotrófico de ampla distribuição geográfica e elevado espectro de hospedeiros, capaz de infectar mais de 500 espécies vegetais. Sua alta capacidade adaptativa está associada à formação de microescleródios, estruturas de resistência que permitem sua sobrevivência no solo por longos períodos, mesmo sob condições ambientais adversas (DEGANI et al., 2023; SUTHAR; DUFOSSÉ; SINGH, 2023).

A infecção pelo patógeno ocorre principalmente via sistema radicular ou através de ferimentos nos tecidos, sendo favorecida por condições de estresse abiótico, especialmente temperaturas elevadas e baixa disponibilidade hídrica, comprometendo o metabolismo vegetal e facilitando a colonização pelo fungo (MADHU *et al.*, 2021; PEREIRA *et al.*, 2022).

Os sintomas típicos da doença incluem desintegração da medula do colmo, coloração acinzentada dos tecidos internos e presença de microescleródios, conferindo aspecto de “carvão”. Esses danos prejudicam o transporte de água e nutrientes, resultando em redução do vigor da planta, acamamento e perdas expressivas na produtividade (SHIH *et al.*, 2022; COELHO *et al.*, 2022).

Durante o período reprodutivo ocorre intensa redistribuição de fotoassimilados para a espiga, o que pode enfraquecer estruturalmente o colmo e aumentar a suscetibilidade à infecção por patógenos necrotróficos (REN *et al.*, 2022). Deficiências de nutrientes como potássio, cálcio e silício podem comprometer a integridade da parede celular, reduzindo a lignificação dos tecidos e favorecendo a penetração e colonização do patógeno (COELHO *et al.*, 2022).

A persistência do inóculo no solo, aliada à ampla gama de hospedeiros do patógeno, limita a eficácia de práticas como a rotação de culturas. Estratégias integradas, incluindo o uso de cultivares resistentes, manejo adequado do solo e controle biológico, têm sido apontadas como alternativas promissoras para o manejo da doença (WAHEED *et al.*, 2024).

Métodos como a inoculação com palitos colonizados têm sido amplamente utilizados por sua eficiência em simular a infecção natural e promover a colonização do tecido vegetal de forma controlada (BIZARI *et al.*, 2024). Além disso, a escolha do local de inoculação no colmo pode influenciar a severidade da doença, uma vez que diferentes regiões apresentam variações anatômicas e fisiológicas que afetam a suscetibilidade à infecção (PEREIRA *et al.*, 2022).

A compreensão dos fatores envolvidos na interação patógeno-hospedeiro-ambiente, associada à padronização metodológica em estudos experimentais, é essencial para o avanço do conhecimento sobre a podridão do carvão e para o desenvolvimento de estratégias eficazes de manejo na cultura do milho.

### **3 METODOLOGIA**

Esta pesquisa é um estudo experimental, com abordagem laboratorial e de campo, no qual foram realizadas inoculações do fungo *M. phaseolina* em diferentes entrenós de colmos de plantas de milho.

### 3.1 Preparo do inóculo

O isolado de *M. phaseolina* foi obtido da coleção de fungos fitopatogênicos da Embrapa Pesca e Aquicultura e Sistemas Agrícolas – Palmas (TO). Para reativação, o isolado foi repicado em placas de Petri contendo meio de cultura Batata Dextrose Ágar (BDA), sendo incubado em câmara do tipo BOD (Demanda Bioquímica de Oxigênio) a  $28 \pm 2$  °C no escuro, por um período de sete dias.

Após isso, a amostra foi preparada por meio da retirada de discos miceliais estéreis (aproximadamente 3–5 mm de diâmetro) da periferia dos micélios em crescimento, utilizando um vazador estéril e transferidas para bequers com meio BDA. A utilização de discos miceliais é uma técnica amplamente empregada em estudos de patogenicidade e inoculação artificial de patógenos fitopatogênicos, sendo descrita em metodologias de avaliação em diferentes culturas (BIZARI *et al.*, 2024). Posteriormente foram adicionados aos bequers, palitos de dente previamente fervidos em água deionizada e autoclavados, para a colonização do fungo.

### 3.2 Experimento em campo

O experimento foi conduzido na área experimental da Faculdade Afya Porto Nacional, localizada no município de Porto Nacional (TO), sob as coordenadas geográficas -10.694691965566514 e -48.38412845995711, com solo classificado como Latossolo vermelho. O experimento foi delineado em blocos ao acaso (DBC), com quatro repetições, totalizando 24 parcelas experimentais. Cada parcela foi composta por quatro linhas de 5 metros de comprimento, espaçadas em 0,5 metro. As duas linhas centrais foram destinadas às avaliações, enquanto as linhas laterais foram utilizadas como bordaduras.

Quanto ao material vegetal, utilizou-se o híbrido de milho MG 556, escolhido por apresentar suscetibilidade conhecida ao patógeno, característica que favorece a observação dos efeitos da inoculação. Além disso, sua escolha justifica-se por ser amplamente cultivado na região do Tocantins e pela escassez de informações sobre a resistência genética de outros híbridos comerciais.

A semeadura foi manual, realizada em sistema de plantio direto, no período da safrinha 2025/1, com adubação conforme recomendação baseada na análise de solo. Foram semeadas 20 sementes por linha, realizando-se posteriormente o desbaste para obtenção de 15 plantas por linha (aproximadamente 3 plantas por metro), totalizando 30 plantas por área útil da parcela. A adubação de cobertura foi realizada no estágio fenológico V4 da cultura. Em relação ao método de inoculação, foram incluídas na pesquisa apenas plantas saudáveis, sem sintomas de doenças, estresse hídrico ou danos mecânicos.

As inoculações foram realizadas aos 50 dias após a semeadura, quando as plantas se encontravam nos estádios fenológicos V9 a V10 da cultura, utilizando-se o método do palito colonizado. Foram estabelecidos seis tratamentos:

- T1: Inoculação no 3º entrenó com o fungo
- T2: Inoculação com palito estéril no 3º entrenó
- T3: Inoculação no 5º entrenó com o fungo
- T4: Inoculação com palito estéril no 5º entrenó
- T5: Inoculação no 7º entrenó com o fungo
- T6: Inoculação com palito estéril no 7º entrenó

Em cada parcela, três plantas receberam palitos colonizados com o fungo e outras três receberam palitos estéreis, totalizando seis plantas por parcela destinadas à avaliação. Assim, considerando-se quatro repetições e seis tratamentos, obteve-se um total de 72 plantas inoculadas e 72 plantas controle, perfazendo 144 plantas avaliadas.

Para a avaliação da severidade da doença, foram selecionadas cinco plantas inoculadas por tratamento/parcela, além de três plantas testemunhas contendo palitos estéreis. As plantas selecionadas foram coletadas com auxílio de tesouras de poda e, posteriormente, os colmos foram seccionados longitudinalmente com o uso de canivetes, permitindo a visualização das lesões internas provocadas pelo patógeno.

A severidade da doença foi determinada por meio de avaliação visual das lesões presentes no colmo, utilizando a escala diagramática proposta por Nicoli *et al.* (2015), na qual são atribuídas notas de acordo com a extensão da área lesionada e o grau de deterioração do tecido vegetal. Por fim, os resultados foram analisados e apresentados na forma de tabelas e gráficos, destacando-se a relação entre a posição de inoculação, a severidade da doença e o impacto na produtividade da cultura do milho. Quanto à análise estatística, os dados obtidos foram

submetidos à análise de variância (ANOVA), seguida do teste de medias Scott-Knott a 5 % de probabilidade, utilizando-se o software Sisvar 5.7.

## **4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A podridão de colmo causada por *M. phaseolina* é considerada uma das doenças mais importantes em condições de clima quente e seco, especialmente em regiões de cultivo de segunda safra (MARQUEZ *et al.*, 2021). A intensidade dos sintomas observados neste estudo reforça a elevada agressividade do patógeno quando associado a condições ambientais favoráveis, como temperaturas elevadas e déficit hídrico, fatores que favorecem a germinação de microescleródios e a colonização dos tecidos vegetais (MARQUEZ *et al.*, 2021). Essas condições são frequentemente observadas em sistemas de cultivo de milho no Brasil, principalmente na safrinha, período caracterizado por menor disponibilidade hídrica e temperaturas mais elevadas (DA COSTA *et al.*, 2019).

A presença de microescleródios observada nos tecidos infectados neste estudo confirma a colonização ativa da planta pelo patógeno e representa um importante indicativo da capacidade de sobrevivência de *M. phaseolina* no ambiente. Essas estruturas são responsáveis pela persistência do fungo no solo e desempenham papel fundamental no ciclo epidemiológico da doença, contribuindo para a manutenção do inóculo em áreas agrícolas por vários anos (DEGANI *et al.*, 2023).

Os sintomas observados nas plantas inoculadas, como a desintegração da medula e a coloração acinzentada dos tecidos internos do colmo, são característicos da podridão de colmo associada a *M. phaseolina*. A degradação da medula compromete o transporte de água e nutrientes na planta, causando redução do vigor e aumento da suscetibilidade ao acamamento. Esse fenômeno pode resultar em perdas significativas de produtividade, uma vez que o acamamento dificulta a colheita mecanizada e interfere no enchimento adequado dos grãos (DA COSTA *et al.*, 2019).

A análise de variância revelou efeito significativo da localização da inoculação de *M. phaseolina* no colmo do milho (Tabela 1). O coeficiente de variação foi de 22,53%, indicando boa precisão experimental. Dessa forma, a dispersão observada não comprometeu a separação estatística realizada pelo teste de Scott-Knott, o que permitiu identificar diferenças com relevância biológica e estatística entre os tratamentos avaliados. Diante da significância do fator

tratamentos, procedeu-se à comparação de médias para identificar as diferenças entre os tratamentos.

Tabela 1 - Resumo da análise de variância (ANOVA) e comparação de médias da variável incidência em função da localização da inoculação de *Macrophomina phaseolina* no colmo do milho.

Fonte de variação	GL	SQ	QM	Fc	Pr > Fc
Tratamentos	6	39,5992	7,9198	7,075	0,0008
Erro	18	20,1485	1,1194		
Total corrigido	23	59,7476			
CV (%)					22,53

**Fonte:** Dados da pesquisa (2025).

A comparação de médias revelou diferença significativa entre os tratamentos para a severidade da doença em função do local de inoculação no colmo, sendo formado três grupos distintos (Tabela 2). O menor valor foi observado na testemunha inoculada no 3º entrenó (2,41), formando grupo isolado. Valores intermediários foram registrados para os tratamentos relacionados ao 3º, 5º e 7º entrenós na condição testemunha, que não diferiram entre si. As maiores médias foram observadas nos tratamentos com inoculação no 5º e 7º entrenós (6,33 e 6,00, respectivamente), observando-se maior severidade associado à inoculação nesses pontos do colmo, indicando que essas regiões do colmo são mais suscetíveis à colonização do patógeno.

**Tabela 2** Valores médios da severidade em função do local de inoculação do colmo.

Tratamento	Local de inoculação no colmo	Média da nota de incidência	Grupo
T2	Testemunha 3º entrenó	2,41	a1
T4	Testemunha 5º entrenó	4,17	a2

T1	3º entrenó com fungo	4,50	a2
T6	Testemunha 7º entrenó	4,75	a2
T5	7º entrenó com fungo	6,00	a3
T3	5º entrenó com fungo	6,33	a3

**Fonte:** Dados da pesquisa (2025).

A maior intensidade de sintomas em regiões do colmo próximas à espiga, como no quinto e sétimos entrenós, pode estar relacionada à dinâmica fisiológica da planta durante o período reprodutivo. Durante o enchimento de grãos ocorre intensa mobilização de fotoassimilados para a espiga, que funciona como principal dreno metabólico da planta. Essa redistribuição de recursos pode favorecer a colonização por patógenos necrotróficos que exploram tecidos enfraquecidos ou metabolicamente ativos (REN et al., 2022).

Além disso, regiões intermediárias tendem a apresentar maior acúmulo de reservas e tecidos parenquimáticos, como também menor lignificação relativa, o que favorece a instalação, colonização e progressão de fungos necrotróficos como *M. phaseolina* (MÁRQUEZ et al., 2021). Esse efeito é potencializado por condições ambientais de estresse hídrico e altas temperaturas, comuns no período de safrinha no estado do Tocantins, que contribuem para o enfraquecimento das plantas e aumentam sua suscetibilidade à infecção (MADHU et al., 2021).

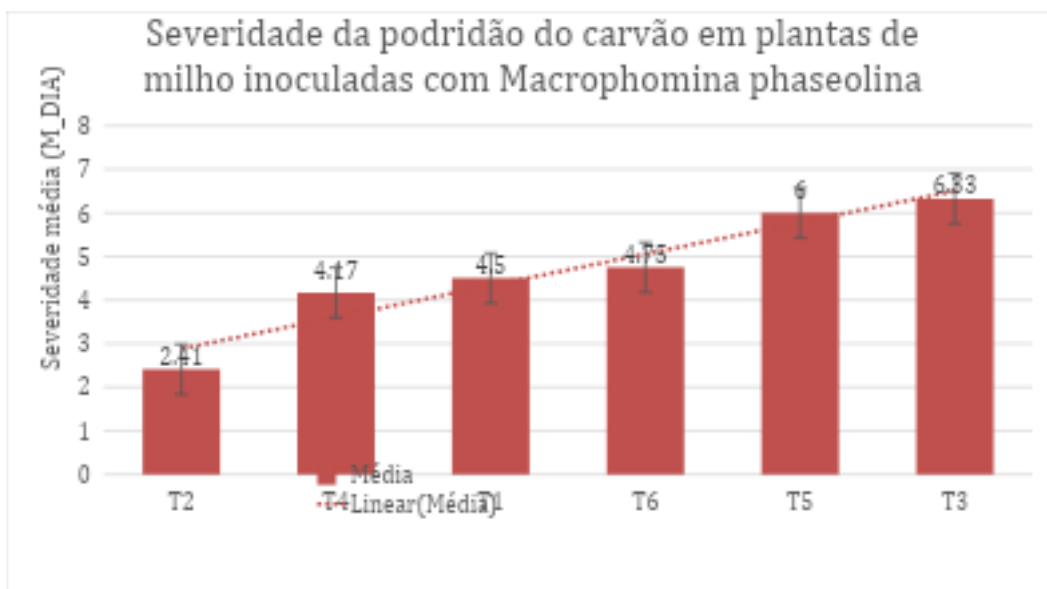
Assim, fatores relacionados à fisiologia e nutrição da planta podem influenciar a resistência estrutural do colmo. Deficiências nutricionais, especialmente de nutrientes relacionados à formação da parede celular, podem reduzir a lignificação dos tecidos e aumentar a suscetibilidade a patógenos que causam podridões do colmo (COELHO et al., 2022). Nesse contexto, a interação entre nutrição vegetal, condições ambientais e presença do patógeno desempenha papel determinante na expressão da doença.

O método de inoculação utilizado neste trabalho, baseado na introdução de palitos de madeira colonizados pelo patógeno, mostrou-se eficiente para promover a infecção e permitir a avaliação da severidade da doença em diferentes posições do colmo. Estudos recentes indicam que métodos padronizados de inoculação são fundamentais para garantir maior reprodutibilidade experimental e permitir comparações confiáveis entre diferentes genótipos ou tratamentos (BIZARI et al., 2024).

A presença de microescleródios nas amostras analisadas constitui uma evidência importante da colonização por *M. phaseolina*. Essas estruturas são características do patógeno e garantem sua sobrevivência no solo por longos períodos, mesmo na ausência de hospedeiros suscetíveis. Elas funcionam como estruturas de resistência que permitem ao fungo tolerar condições ambientais adversas e reiniciar o processo de infecção quando as condições se tornam favoráveis. Dessa forma, sua ocorrência indica o potencial do patógeno para permanecer ativo no ambiente e causar novas infecções em ciclos subsequentes da cultura (MADHU *et al.*, 2021).

Além das alterações estruturais observadas, identificou-se coloração acinzentada nos tecidos infectados, característica associada à produção de melanina por fungos fitopatogênicos. A melanização desempenha papel relevante na sobrevivência e na virulência do patógeno, pois confere maior proteção contra condições ambientais adversas, como altas temperaturas, radiação solar intensa e períodos de baixa umidade. Esse processo está diretamente ligado à persistência ambiental e à capacidade infectiva do patógeno (JIA *et al.*, 2025; SUTHAR; DUFOSSÉ; SINGH, 2023).

A Figura 1 ilustra a distribuição das médias de severidade da doença entre os tratamentos, evidenciando visualmente a superioridade dos tratamentos pertencentes ao grupo a3 em relação aos demais, reforçando os resultados estatísticos da Tabela 1 e demonstra a influência da localização da inoculação sobre a doença.



**Figura 1** Severidade média da podridão do carvão (M\_DIA) em plantas de milho submetidas à inoculação de *Macrophomina phaseolina* em diferentes posições do colmo

**Fonte:** Dados da pesquisa (2025).

Nesse contexto, o padrão de distribuição da doença observado neste estudo evidencia a importância da padronização dos métodos de inoculação em experimentos de patogenicidade. A escolha adequada do local de inoculação permite identificar os pontos mais favoráveis ao desenvolvimento do patógeno e melhora a precisão das avaliações de severidade, especialmente em estudos que envolvem a caracterização da resistência genética de diferentes genótipos, uma vez que a identificação de materiais resistentes constitui uma estratégia fundamental para o manejo da podridão de colmo em milho (ODER et al., 2025).

De modo geral, os resultados obtidos indicam que *M. phaseolina* apresenta elevado potencial de dano em condições ambientais semelhantes às observadas na safrinha do Tocantins. A manifestação da doença foi influenciada tanto pelas condições ambientais quanto pelo método de inoculação utilizado, o que evidencia a importância da padronização metodológica em estudos fitopatológicos. Somado a isso, estudos recentes relatam que condições de estresse ambiental, como altas temperaturas e déficit hídrico, favorecem o desenvolvimento da doença e intensificam os danos causados pelo patógeno (REDDY et al., 2025).

Portanto, os resultados obtidos permitem identificar os entrenós que proporcionam maior severidade da doença, fornecendo subsídios importantes para a padronização de metodologias de inoculação em estudos de patogenicidade e resistência genética em milho. Dessa forma, o presente trabalho contribui para o avanço do conhecimento sobre a podridão de carvão do colmo causada por *M. phaseolina*, auxiliando no desenvolvimento de estratégias mais eficientes de avaliação de resistência e manejo da doença, incluindo abordagens baseadas em controle biológico e manejo integrado (WAHEED et al., 2024).

## 5 CONCLUSÃO

Esta pesquisa permitiu demonstrar que a localização da inoculação de *M. phaseolina* no colmo de plantas de milho influencia a severidade da podridão do carvão. Assim, a hipótese de que diferentes entrenós apresentam comportamentos distintos quanto ao desenvolvimento da doença foi confirmada, evidenciando a importância da escolha adequada do ponto de inoculação em experimentos fitopatológicos.

Com os resultados, a inoculação realizada em entrenós intermediários do colmo foi mais eficiente para a reprodução de sintomas severos da doença, enquanto outras posições

apresentaram menor intensidade de infecção. Esses achados sugerem que características anatômicas e fisiológicas do colmo do milho interferem na colonização e progressão da doença.

O método de inoculação por palito mostrou-se eficiente, reforçando sua aplicabilidade em estudos experimentais com *M. phaseolina*. A padronização da localização de inoculação, contribui para reduzir variações experimentais e evitar a subestimação da severidade da doença, fator essencial para avaliações confiáveis de resistência genética em milho.

Os resultados obtidos são relevantes para condições típicas do período de safrinha, caracterizadas por altas temperaturas e estresse hídrico, que favorecem a ocorrência da podridão do carvão. Nesse contexto, a adoção de metodologias experimentais adequadas torna-se fundamental para o avanço de pesquisas voltadas ao manejo da doença e ao desenvolvimento de cultivares mais resistentes.

Conclui-se que a definição da localização ideal para a inoculação de *Macrophomina phaseolina* no colmo do milho representa uma contribuição relevante para a área da Fitopatologia, favorecendo a padronização de ensaios experimentais e para o desenvolvimento de estratégias futuras de manejo e controle da podridão do carvão na cultura do milho.

## REFERÊNCIAS

AGRIOS, George N. *Plant pathology*. 5. ed. Burlington: Elsevier Academic Press, 2005.

ALVES, E.; POZZA, E. A.; OLIVEIRA, J. R. *Introdução à fitopatologia*. 2. ed. Lavras: Editora UFLA, 2015.

ARENDS, B. R. et al. **Helicoverpa zea (Lepidoptera: Noctuidae) feeding incidence and survival on Bt maize in relation to maize in the landscape.** *Pest Management Science*, 78(6):2309–2315, 2022.

BIZARI, E. H. et al. **Methods for inoculation and evaluation of resistance to *Macrophomina phaseolina* in soybean genotypes.** *Journal of Phytopathology*, v. 172, n. 2, 2024. DOI: 10.1111/jph.13298.

BORÉM, Aluizio; GALVÃO, João Carlos Cardoso; PIMENTEL, Miguel Angelo (org.). *Milho: do plantio à colheita*. Viçosa: Editora UFV, 2015.

COELHO, A. M. et al. **Diagnóstico de deficiências nutricionais em milho.** *Scientia Agricola*, 2022. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/aesalq/a/5sQJKZcFLpt8VFZCwL3XdxS>. Acesso em: 07 maio 2025.

COELHO, A. M. et al. **Nutritional deficiencies and their impacts on maize physiology.** *Scientia Agricola*, 2022.

COELHO, Antônio Marcos; FRANÇA, Geraldo Eugênio de; PITTA, Gilberto Vieira. Nutrição e adubação do milho. In: BORÉM, A.; GALVÃO, J. C. C.; PIMENTEL, M. A. (org.). *Milho: do plantio à colheita*. Viçosa: Editora UFV, 2015. p. 129–162.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). *Acompanhamento da safra brasileira de grãos*. Brasília: CONAB, 2024.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos - Safra 2023/24 - Terceiro Levantamento**. Brasília: Conab, 2024. Disponível em: <https://www.conab.gov.br>. Acesso em: 04 mar. 2025.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira: grãos – safra 2022/23 – 12º levantamento**. Brasília, 2023. Disponível em: <https://www.conab.gov.br>. Acesso em: 07 maio 2025.

COSTA, R. V. da; CASELA, C. R.; COTA, L. V. **Doenças do milho**. In: BORÉM, A.; GALVÃO, J. C. C.; PIMENTEL, M. A. (org.). *Milho: do plantio à colheita*. Viçosa: Editora UFV, 2015.

DA COSTA, R. V. et al. **Doenças do colmo na cultura do milho: identificação, epidemiologia e controle**. Circular Técnica Embrapa, n. 90, p. 1-7, 2019.

DEGANI, O. et al. **Occurrence of *Macrophomina phaseolina* in cotton fields in Israel: identification and pathogenicity**. *Plant Pathology*, v. 72, n. 3, p. 589-599, 2023.

DRAVES, M. A. et al. **Field preparation and planting corn (*Zea mays*)**. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2025. Disponível em: PubMed PMID: 40461278.

DUARTE, M. M. et al. **Danos e nível de dano econômico do percevejo *Dichelops melacanthus* na cultura do milho**. *International Journal of Maize & Sorghum*, v.14, n.3, p.291–299, 2014.

ECKERT, F. R. et al. **Produção de biocombustíveis a partir do milho: avanços tecnológicos e desafios futuros**. *Energia na Agricultura*, v. 38, n. 1, p. 15-24, 2023a.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **FAOSTAT Statistical Database**. Rome, 2020. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/>. Acesso em: 07 maio 2025.

FERNANDES, F. T.; OLIVEIRA, E. **Principais doenças na cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2007.

FERNANDES, F. T.; OLIVEIRA, E.; PACCOLA-MEIRELLES, L. D. **Doenças na cultura do milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2015.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **FAOSTAT: statistical database**. Rome: FAO, 2023.

FREITAS, M. A. et al. **Sobrevivência de *Macrophomina phaseolina* em diferentes sistemas de manejo e culturas hospedeiras**. *Summa Phytopathologica*, v. 45, n. 3, p. 256-262, 2019.

GOMES, Frederico Pimentel. *Curso de estatística experimental*. 15. ed. Piracicaba: FEALQ, 2009.

HOLLIDAY, P.; PUNITHALINGAM, E. *Macrophomina phaseolina*. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1970.

LANA, U. G. P.; COSTA, R. V.; COTA, L. V. *Manejo de doenças na cultura do milho*. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2018.

MACHADO, J. C. et al. **Avaliação de métodos de inoculação de *Macrophomina phaseolina* em milho e suas implicações para a seleção de cultivares resistentes**. *Tropical Plant Pathology*, v. 45, n. 3, p. 179-187, 2020.

MADHU, P. et al. **Identification and pathogenicity of *Macrophomina phaseolina* causing charcoal rot in maize**. *Journal of Plant Pathology*, v. 103, p. 981-988, 2021.

MAYEK-PÉREZ, N.; GARCÍA-ESPINOSA, R.; LÓPEZ-CASTAÑEDA, C. **Durability of resistance to *Macrophomina phaseolina* in common bean**. *Plant Disease*, St. Paul, v. 86, n. 6, p. 660-664, 2002.

MICHEREFF, Sami Jorge; ANDRADE, D. E. G. T.; MENEZES, M. *Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais*. Recife: UFRPE, 2005.

MUNKVOLD, Gary P. **Epidemiology of stalk rot diseases in maize**. *Plant Health Progress*, St. Paul, 2003.

NELSON, P. E.; TOUSSON, T. A.; MARASAS, W. F. O. *Fusarium species: an illustrated manual for identification*. University Park: Pennsylvania State University Press, 1983.

ODER, G. et al. **Genome-wide association study for resistance to *Macrophomina phaseolina* in maize**. *Scientific Reports*, v. 15, 2025.

ODER, G., YUCEER, S., CAN, C. et al. **Estudo de associação genômica ampla para resistência a *Macrophomina phaseolina* em milho (*Zea mays* L.)**. *Sci Rep* 15, 7794 (2025). <https://doi.org/10.1038/s41598-025-87798-8>

PEREIRA, O. L.; BARRETO, R. W. *Fungos fitopatogênicos*. Viçosa: Editora UFV, 2017.

PEREIRA, T. et al. **Influência da densidade de inóculo e condições ambientais na severidade da podridão de colmo causada por *Macrophomina phaseolina* em milho**. *Summa Phytopathologica*, v. 48, n. 2, p. 101-109, 2022.

REDDY TRISHA, PRAVEEN KUMAR G, SUNIL N E MALLAIAH B. **Identificação de fontes de resistência à podridão do colmo pós-floração em linhagens endogâmicas de milho (*Zea mays* L.) de ciclo curto com fundo temperado**. *Int. J. Adv. Biochem. Res.* 2025;9(8S):471-474. DOI: [10.33545/26174693.2025.v9.i8Sh.5194](https://doi.org/10.33545/26174693.2025.v9.i8Sh.5194)

REIS, E. M.; CASA, R. T.; BIANCHIN, V. **Manejo integrado de doenças de plantas.** *Revista Plantio Direto*, Passo Fundo, v. 112, p. 12–18, 2009.

REN, H. et al. **Physiological mechanisms of grain filling in maize under stress conditions.** *Frontiers in Nutrition*, 2022.

REN, H., ZHAO, M., ZHOU, B. et al. **Understanding physiological mechanisms of variation in grain filling of maize under high planting density and varying nitrogen applicate rate,** *Frontiers in Nutrition*, 2022.

RITCHIE, Stephen W.; HANWAY, John J.; BENSON, Glenn O. **How a corn plant develops.** Ames: Iowa State University of Science and Technology, 1993.

SCHURT, D. A.; COTA, L. V.; COSTA, R. V. **Podridões do colmo do milho.** Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2013.

SHIH, H. et al. **First report of *Macrophomina phaseolina* causing charcoal rot in soybean in Taiwan.** *Plant Disease*, v. 106, n. 6, p. 1720-1721, 2022.

SILVA, J. R. et al. **Métodos de inoculação de *Macrophomina phaseolina* em milho.** *Summa Phytopathologica*, v. 43, n. 2, p. 175-182, 2017.

SOUZA, I. R. P.; COTA, L. V.; COSTA, R. V. **Avaliação de resistência de híbridos de milho à podridão de colmo.** *Tropical Plant Pathology*, Brasília, v. 41, p. 80–87, 2016.

SUTHAR, P.; DUFOSSÉ, L.; SINGH, R. Fungal melanin and its role in pathogenicity. *Journal of Fungi*, 2023.

WAHEED, Z. et al. **Biological control strategies against *Macrophomina phaseolina*.** *Scientific Reports*, v. 14, 2024.

WAHEED, Z., ANWAR, W., ANJUM, T. et al. **Utilização de matéria-prima de milho pirolisado em combinação com *Trichoderma viride* contra *Macrophomina phaseolina*.** *Sci Rep* 14 , 19762 (2024). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-70975-6>

WRATHER, J. A.; ANDERSON, T. R.; ARSYAD, D. M. **Soybean disease loss estimates for the top soybean-producing countries.** *Plant Disease*, St. Paul, v. 85, n. 6, p. 646–650, 2001.

ZAMBOLIM, Laércio; JESUS JUNIOR, Waldir Cintra de; PEREIRA, Olinto Liparini. **O essencial da fitopatologia.** Viçosa: Editora UFV, 2018.

ZHANG, W.; LI, H.; ZHANG, C.; HOU, J.; GUO, X.; DONG, D.; LI, X. **Impact of Maize Nutrient Composition on the Developmental Defects of *Spodoptera frugiperda*.** *Agronomy*, v. 14, n. 8, p. 1690, 2024. DOI: 10.3390/agronomy14081690.