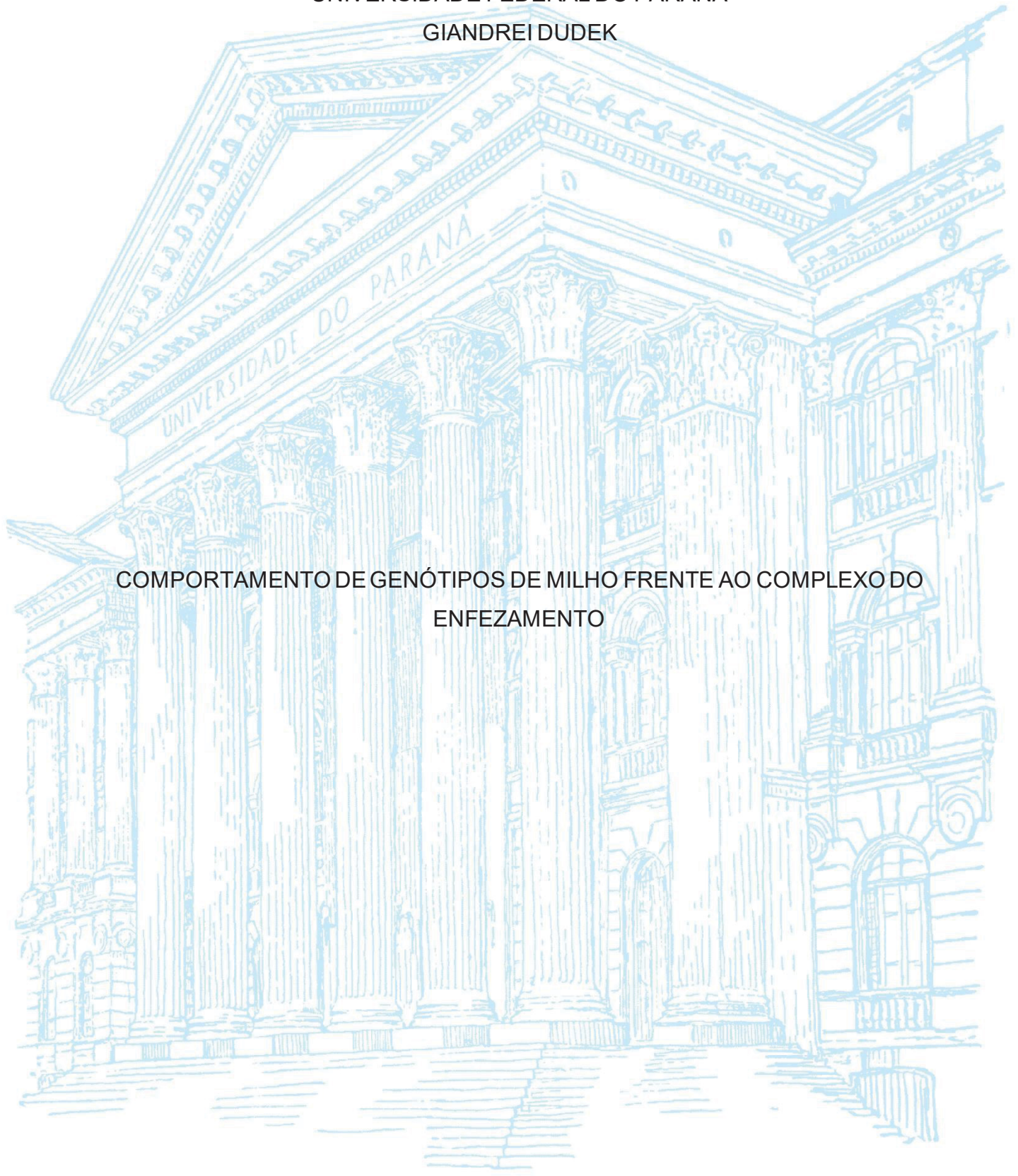


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
GIANDREI DUDEK



COMPORTAMENTO DE GENÓTIPOS DE MILHO FRENTE AO COMPLEXO DO
ENFEZAMENTO

PALOTINA
2023

GIANDREI DUDEK

COMPORTAMENTO DE GENÓTIPOS DE MILHO FRENTE AO COMPLEXO DO
ENFEZAMENTO

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Biotecnologia, Setor de Palotina, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Robson Fernando Missio

PALOTINA

2023

Universidade Federal do Paraná. Sistemas de Bibliotecas.
Biblioteca UFPR Palotina.

D845 Dudek, Giandrei
 Comportamento de genótipos de milho frente ao complexo
 do enfezamento / Giandrei Dudek. – Palotina, PR, 2023.

 Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná,
 Setor Palotina, PR, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia.
 Orientador: Prof. Dr. Robson Fernando Missio.

 1. Espiroplasma. 2. Fitoplasma. 3. Melhoramento genético.
 I. Missio, Robson Fernando. II. Universidade Federal do Paraná.
 III. Título.

CDU 606

Bibliotecária: Aparecida Pereira dos Santos – CRB 9/1653



TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação BIOTECNOLOGIA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de **GIANDREI DUDEK** intitulada: **Comportamento de Genótipos de Milho Frente ao Complexo do Enfezamento**, sob orientação do Prof. Dr. ROBSON FERNANDO MISSIO, que após terem inquirido o aluno e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

PALOTINA, 27 de Fevereiro de 2023.

Assinatura Eletrônica

28/02/2023 14:23:56.0

ROBSON FERNANDO MISSIO

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

28/02/2023 13:09:14.0

IVAN BORDIN

Avaliador Externo (INSTITUTO DE DESENVOLVIMENTO RURAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

28/02/2023 15:45:30.0

VIVIAN CARRE MISSIO

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Dedico este trabalho a todos os que me ajudaram ao longo desta caminhada em especial a minha esposa Julia Catarina Hammerschmitt Dudek, sem seu apoio e café não teria chegado até aqui.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, a Deus, que permitiu com que meus objetivos fossem alcançados, durante todos os meus anos de estudos.

Um trabalho de mestrado é uma longa viagem, que inclui uma trajetória permeada por inúmeros desafios, tristezas, incertezas, alegrias e muitos percalços pelo caminho, mas apesar do processo solitário a que qualquer investigador está destinado, reúne contributos de várias pessoas, indispensáveis para encontrar o melhor rumo em cada momento da caminhada.

Trilhar este caminho só foi possível com o apoio, energia e força de várias pessoas, a quem dedico especialmente este projeto de vida. Especialmente a meu orientador, Robson Fernando Missio, que sempre levou-me a pensar mais longe, agradeço a orientação exemplar pautada por um elevado e rigoroso nível científico, uma visão crítica e oportuna, as quais contribuíram para enriquecer, com grande dedicação, passo por passo, todas as etapas deste trabalho realizado.

A minha esposa, Julia Catarina Hammerschmitt Dudek, pelo amor, partilha, companheirismo e apoio incondicional, agradeço a enorme compreensão, generosidade e alegria com que me brindou constantemente, contribuindo para chegar ao fim deste percurso muito melhor do que ao iniciá-lo.

Qualquer um pode contar as sementes em uma maçã, mas só Deus pode contar o número de maçãs em uma semente. (Robert H. Schuller, 1926-2015)

RESUMO

O complexo de enfezamento, transmitido pela cigarrinha do milho (*Dalbulus maidis*), tem se tornado uma das principais doenças do milho nas últimas safras no Brasil e na América Latina. A resistência genética é uma das melhores forma de controle e prevenção às doenças de plantas, principalmente devido a sua eficiência e baixo impacto ambiental, pela redução na utilização de produtos fitossanitários. Este trabalho buscou identificar fontes de resistência ao complexo dos enfezamentos por meio da avaliação da incidência e severidade e seus efeitos nas variáveis agronômicas em diferentes genótipos de milho (*Zea mays L.*). O experimento foi conduzido em duas safras (2020/21 e 2021/22) em Palotina e Entre Rios do Oeste – PR. Utilizou-se o delineamento em blocos aumentados, com 60 genótipos e 3 híbridos testemunhas, arrançadas em 4 blocos. As parcelas experimentais foram constituídas por quatro linhas com 5 m de comprimento e espaçamento de 0,9 m, com uma população aproximada de 55.500 plantas ha⁻¹, sendo avaliadas as duas fileiras centrais. Dos 60 genótipos, foram selecionados 31 genótipos que tiveram bom desenvolvimento inicial de estande e dados produtivos completos para avaliações. Entre os estádios R2 e R3 realizaram-se as avaliações para incidência e severidade dos enfezamentos, seguindo as metodologias e protocolos propostos pela Embrapa. Foram avaliadas características agronômicas dos diferentes genótipos para comparações com os efeitos causados pelo complexo dos enfezamentos, e a tolerância de cada genótipo, sendo identificados os melhores indicadores produtivos para avaliação de tolerância de acordo com a correlação dos dados de incidência e severidade com os parâmetros produtivos. Os genótipos responderam diferentemente para a incidência e severidade dos enfezamentos. Análises de regressão e análise multivariada apresentaram resultados que comprovam o efeito do complexo de enfezamentos do milho para redução da produtividade, sendo possível classificar em níveis a tolerância e resistência dos genótipos avaliados. Os genótipos GNZ 7799 VIP3, Sempre 10A40 VIP3, DKB 360 PRO3, FS 575 PWU, NK Defender VIP3 e MG 540 PWU mostraram-se como os melhores genótipos para servirem de fontes de resistência ao complexo do enfezamento.

Palavras-chave: mollicutes; espiroplasma; fitoplasma; enfezamento pálido; enfezamento vermelho; *Dalbulus maidis*; melhoramento genético.

ABSTRACT

The stunting complex, transmitted by the corn leafhopper (*Dalbulus maidis*), has become one of the main corn diseases in recent harvests in Brazil and Latin America. Genetic resistance is one of the best ways to control and prevent plant diseases, mainly due to its efficiency and low environmental impact, due to the reduction in the use of phytosanitary products. This work sought to identify sources of resistance to the stunt complex through the assessment of incidence and severity and their effects on agronomic variables in different genotypes of maize (*Zea mays* L.). The experiment was treated in two seasons (2020/21 and 2021/22) in Palotina and Entre Rios do Oeste - PR. An augmented block design was used, with 60 genotypes and 3 control hybrids, arranged in 4 blocks. The experimental plots were distributed over four rows, 5 m long and spaced 0.9 m apart, with an approximate population of 55,500 plants ha⁻¹, with the two inner central plots evaluated. Of the 60 genotypes, 31 genotypes were selected that had good initial stand development and complete yield data for estimation. Between stages R2 and R3, estimates of incidence and severity of stunting were carried out, following the methodologies and protocols proposed by Embrapa. Agronomic characteristics of the different genotypes were evaluated for comparisons with the effects caused by the stunting complex, and the tolerance of each genotype, being identified the best productive indicators for tolerance evaluation according to the influence of the incidence and severity data with the productive results. The genotypes responded differently for stunting incidence and severity. Regression analyzes and multivariate analysis showed results that prove the effect of the maize stunting complex to reduce productivity, making it possible to classify satisfactory levels of tolerance and resistance of the genotypes. Genotypes GNZ 7799 VIP3, Semper 10A40 VIP3, DKB 360 PRO3, FS 575 PWU, NK Defender VIP3 and MG 540 PWU are known as the best genotypes to serve as sources of resistance to stunting complex.

Keywords: mollicutes; spiroplasma; phytoplasma; corn stunt spiroplasma; maize bushy stunt *Dalbulus maidis*, genetic improvement.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	10
MATERIAIS E MÉTODOS.....	13
LOCAL E DESENHO EXPERIMENTAL.....	13
AVALIAÇÃO DA INFESTAÇÃO DE <i>D. MAIDIS</i>	14
INCIDÊNCIA E SEVERIDADE DE ENFEZAMENTOS.....	14
DETERMINAÇÃO DAS VARIÁVEIS PRODUTIVAS.....	17
ANÁLISE ESTATÍSTICA	17
RESULTADOS	19
DISCUSSÃO.....	30
CONCLUSÕES.....	35
REFERÊNCIAS	36
ANEXO 1 – INFORMAÇÕES CLIMÁTICAS.....	40
ANEXO 2 – CONTAGEM DE <i>DALBULUS MAIDIS</i> EM CARTUCHO DE MILHO....	41

INTRODUÇÃO

De acordo com a Companhia Nacional de Abastecimento (Conab) o Brasil alcançou a produção de 112,8 milhões de toneladas de milho no período 2021/2022 (Conab, 2022). O milho é cultivado em todas as microrregiões do Brasil, e serve de base para a alimentação de bovinos, suínos e aves. Como descreve Sologuren (2015), os usos do milho envolvem tanto o abastecimento da indústria como o setor energético, tendo aplicação principal como matéria prima para rações de uso animal.

O crescimento constante da produtividade de milho a cada safra é atribuído por Vian et al. (2016) ao desenvolvimento de híbridos geneticamente superiores com relação a produtividade, qualificação das adubações, otimização e uso da mecanização agrícola, irrigação e agricultura de precisão aprimorando a gestão dos recursos.

Devido à grande versatilidade, demanda aquecida e possibilidade ambiental de cultivo em diversas safras no Brasil, a cultura do milho pode ser encontrada a campo em todas as épocas do ano. Essas características do sistema de produção de milho favorecem a manutenção de populações de pragas e patógenos que podem gerar ameaças fitossanitárias à cultura ao longo do tempo (Oliveira e Frizzas 2022).

O enfezamento do milho é a doença mais importante do milho nas Américas e no Caribe, onde causa severo déficit de desenvolvimento das plantas e pode resultar em perdas de até 100% da produtividade (Jones e Medina 2020). Na cultura do milho, dois tipos de enfezamento são conhecidos como enfezamento-pálido e enfezamento-vermelho, ocasionados pelo procarionte *Spiroplasma kunkelii* Whitcomb (Corn Stunt *Spiroplasma*) e por fitoplasma (Maize bushy stunt phytoplasma), respectivamente.

Ambos os patógenos são transmitidos de forma persistente propagativa pela cigarrinha-do-milho (*Dalbulus maidis* DeLong e Wolcott) (Homoptera: Cicadellidae) (Whitcomb et al., 1986; Lee et al., 2000; Firrao et al., 2004), praga que pode impactar negativamente a produção de milho através de danos diretos durante a alimentação e possível transmissão de fitopatógenos como expresso por Jones et al. (2021). Os sintomas decorrentes dos enfezamentos ocasionados pelos mollicutes incluem segundo Vilanova (2021) a redução do porte das plantas, altura de espigas e área foliar, multi-espigamento, má-formação de espigas e grãos, que afetam a produtividade. Todavia, a expressão de tais sintomas é variável de acordo com o

genótipo do milho, podendo tais doenças ocorrer associadamente como infecções múltiplas de outros patógenos (Galvão et al. 2021).

Quando infectadas pelo enfezamento-vermelho ou pelo enfezamento-pálido, as plantas de milho podem mostrar sintomas 30 dias após a infecção, mas, normalmente, os sintomas em campo são mais evidentes a partir da fase de pendoamento (Epagri 2021). A temperatura ambiente afeta diretamente a reprodução da cigarrinha, sendo que, temperaturas acima de 20 °C encurtam o ciclo de ovo a adulto, e temperaturas inferiores a esse valor prolongam esse ciclo (Marín 1987), portanto em condições climáticas com temperaturas elevadas e baixa amplitude as populações de *D. maidis* podem crescer mais rapidamente favorecendo a ocorrência do complexo de enfezamento em milho.

Apesar de utilizar outras espécies de plantas como abrigo na entressafra, *D. maidis* somente se reproduz no milho e no teosinto (Ribeiro e Canale 2021). Portanto, a eliminação de plantas remanescentes é importante para diminuir a população de *D. maidis* na região no período de entressafra (Cota et al. 2021).

Na região Oeste Paranaense, na safrinha de milho 2019/20, em algumas lavouras de milho ocorreram perdas significativas em sua produtividade devido a problemas fitossanitários. Tal fato tem preocupado agricultores, assistência técnica e a Defesa Agropecuária do Estado. Equipe da Embrapa esteve na região onde observaram alta incidência da cigarrinha do milho e sintomas típicos dos enfezamentos, além de tombamento e morte súbita de plantas (Adapar 2021).

A ocorrência de pragas e doenças na cultura do milho leva a elevadas taxas de aplicação de defensivos químicos, o que pode desestabilizar o ambiente e elevar os custos de produção, por isso deve-se buscar fontes de resistência a doenças e pragas e assim desenvolver variedades resistentes que poderão garantir altas produtividades e reduzir os custos. Entretanto, existem poucas informações a respeito da suscetibilidade de cultivares de milho às pragas na safrinha, sobretudo sobre suscetibilidade de genótipos de milho à cigarrinha (Tozetti et al. 1995; Zurita et al. 2000). Assim na escolha da cultivar é necessário sempre estar atento às características dos materiais mais adaptados às condições regionais, o potencial produtivo, estabilidade, resistência a doenças e adequação ao sistema de produção em uso e às condições edafoclimáticas (Borghetti et al. 2017).

A mais atrativa estratégia de manejo de doenças é a utilização de cultivares geneticamente resistentes, uma vez que o seu uso não exige custo adicional ao

produtor, além de não causar impacto negativo ao ambiente (Casela et al. 2006). No melhoramento genético sabe-se que a resistência de um híbrido a doenças é proporcional ao número de linhagens resistentes que entram em sua síntese (Borges et al. 2001). Desse modo, o objetivo do estudo foi avaliar os genótipos de milho comercial e milhos crioulos quanto ao nível de resistência ao complexo do enfezamento na região Oeste do Paraná, impactos do enfezamento sobre a produtividade e identificar fontes de resistência com potencial para melhoramento genético.

MATERIAIS E MÉTODOS

Local e desenho experimental

O experimento foi conduzido a campo em duas áreas experimentais, no município de Palotina (fazenda experimental da UFPR Setor Palotina) e no município de Entre Rios do Oeste – PR (área de propriedade particular) durante a safra de 2020/21. Entretanto, devido a condições climáticas adversas ocorrido na safra de 2020/21 (Anexo 1), mesmo sendo avaliado a incidência e severidade do complexo enfezamento, o experimento foi muito afetado e os dados não foram considerados para fins de análise estatística. Na safra 2021/22 o experimento foi realizado apenas na fazenda experimental da UFPR Setor Palotina, no município de Palotina-PR. Foram avaliadas a incidência, severidade e os teores de clorofila a, b e total de todas as parcelas, entretanto, devido a problemas operacionais na colheita, as variáveis produtivas foram avaliadas em apenas 31 parcelas de um total de 60 parcelas implantadas.

A região do experimento apresenta temperatura média anual variando de 19 °C a 23 °C, mês mais quente (janeiro) variando de 23 °C a 26 °C e mês mais frios (junho) variando de 14 °C a 18 °C. A precipitação pluviométrica média anual varia de 1.700 mm a 2.200 mm, o trimestre mais chuvoso é dezembro-janeiro-fevereiro (média histórica variando de 460 mm a 580 mm), o trimestre menos chuvoso é junho-julho-agosto (média histórica variando de 260 mm a 420 mm) (Gomes et al. 2020), apresentando clima do tipo Cfa da classificação de Köppen, variando entre o clima subtropical e o subtemperado na classificação de Köppen modificada por Maluf, para a região Sul do Brasil (Wrege et al., 2011).

O delineamento experimental empregado neste trabalho foi de blocos aumentados de Federer, com 60 genótipos regulares (45 híbridos comerciais e 15 variedades crioulas do acervo de melhoramento genético da UFPR, Tabela 1). O delineamento foi dividido em 4 blocos (com 15 parcelas), sendo utilizados como testemunha comuns aos blocos os híbridos comerciais: Agrocere 9000 PRO3, Syngenta NK Feroz VIP3 e Syngenta NK Supremo VIP3. As parcelas foram compostas por 4 linhas com 5m de comprimento e 0,9m entre linhas, sendo consideradas como área útil as duas linhas centrais desconsiderando-se 0,5m nas extremidades de cada parcela. Foram semeadas 5 sementes por metro linear com uma densidade média populacional de 55.500 plantas por hectare. Os tratos culturais

foram realizados de acordo com as necessidades e recomendações para a cultura do milho de acordo com as recomendações da Cruz et al. (2006), não sendo realizado o controle de doenças. As adubações de semeadura e cobertura foram realizadas de acordo com análise de solo da área experimental.

Avaliação da infestação de *D. maidis*

Foram realizadas avaliações para quantificar a presença da cigarrinha-do-milho no estágio V6, verificando a presença do inseto em todas as parcelas das áreas. Para isso, foi utilizado o método do saco plástico, adaptado de Waquil (1997), que consiste no ensacamento rápido do cartucho da planta de milho com um saco de plástico de 10 litros. A seguir, a planta foi cortada, e a amostra transportada ao laboratório. As amostras foram armazenadas em freezer a -15 °C por aproximadamente três horas. Posteriormente foram realizadas a identificação e a contagem das cigarrinhas com o auxílio de uma lupa, separando as mesmas em ninfas e adultos (cigarrinhas/cartucho).

A contagem de cigarrinhas (Anexo 2) demonstrou a presença do inseto-vetor em todas os genótipos para pelo menos um local de experimento. Entretanto, a quantificação do número de insetos foi apenas um parâmetro qualitativo para verificar a presença de insetos vetores na área experimental e os dados da contagem não foram utilizados para as análises estatística.

Incidência e severidade de enfezamentos

A incidência do enfezamento do milho foi avaliada 90 dias após a emergência (aproximadamente entre os estádios R2-R3), sendo calculada como a razão entre o número de plantas com sintomas de enfezamento (listras vermelhas nas folhas, estrias brancas, redução da altura da planta, brotos e proliferação de espigas) e o número total de plantas nas duas fileiras centrais de cada parcela (Silva et al. 2021). Os dados foram expressos como porcentagem (%) de plantas com enfezamento. Devido a dificuldade de diferenciar os sintomas de ambos os tipos de enfezamento do milho (enfezamento pálido e vermelho) no campo e porque ambas as doenças podem ocorrer na mesma planta, adotou-se o termo “enfezamento” para ambas as doenças no presente estudo. Os híbridos que apresentaram uma incidência significativamente menor de enfezamento comparadas com outros, foram considerados mais resistentes, e vice-versa.

A intensidade dos sintomas e dos danos causados pelos enfezamentos pode variar em função da idade em que a planta foi infectada. Assim, neste trabalho foi avaliada a severidade da doença de forma individualizada em cada planta, utilizando-se uma escala de notas (de 1 a 6) sugerido por Silva et al. (2021) referentes à média dos sintomas das plantas na parcela (Tabela 2).

Tabela 2. Escala de notas para avaliação de severidade de milho aos enfezamentos segundo Silva et al. 2021.

Nota	Descrição
1	Ausência de sintomas
2	Plantas com menos de 25% das folhas com sintomas, ou seja, folha avermelhada ou amarelada, ou apresentando faixas cloróticas em sua inserção.
3	Plantas com 25% a 50% das folhas com sintomas.
4	Plantas com 50% a 75% das folhas com sintomas.
5	Plantas com mais de 75% das folhas com sintomas.
6	Plantas com morte precoce causada por enfezamentos

Como a avaliação de severidade foi realizada por planta, adotou-se pesos para as notas: notas 1, 2 e 3, atribuídos peso 1; notas 4 e 5, atribuídos peso 2 e, nota 6, atribuído peso 3. Assim para análise do índice de severidade foi utilizado a seguinte equação:

$$\text{Índice de severidade} = \frac{\sum \text{Pesos} \times \text{número de plantas com sintomas}}{\text{Total de plantas avaliadas}}$$

Todas as plantas com sintomas de enfezamento foram marcadas com tinta spray na cor vermelha (plantas doentes), enquanto as plantas sadias permaneceram sem identificação.

Tabela 1. Nome e característica dos genótipos utilizados para estudo da resistência ao complexo dos enfezamentos.

Nº	Genótipo	Transgênico	Tipo ¹	Ciclo ²	ENF ³	Empresa	Nº	Genótipo	Transgênico	Tipo ¹	Ciclo ²	ENF ³	Empresa
1	MG 408 PWU	Sim	HS	P	SI	Morgan	31	DKB 360PRO3	Sim	HS	P	SI	Dekalb
2	UFPR 123	Não	Críoulo	SI	SI	-	32	UFPR 76	Não	Críoulo	SI	SI	-
3	FS 12B082PW	Sim	SI	SI	SI	Forseed	33	GNZ 7788VIP3	Sim	SI	SP	T	Geneze
4	STINE 9801-20VIP3	Sim	HS	P	MT	Stine	34	B 2782PWU	Sim	HS	P	MT	Brevant
5	UFPR 120	Não	Críoulo	SI	SI	-	35	B 2702PWU	Sim	HS	SP	MT	Brevant
6	NK DEFENDER VIP3	Sim	HSM	P	SI	Syngenta	36	UFPR 57	Não	Críoulo	SI	SI	-
7	NK SUPREMO VIP3	Sim	HS	P	SI	Syngenta	37	PRE 20A38VIP3	Sim	HS	P	T	Sempre
8	UFPR 141	Não	Críoulo	SI	SI	-	38	AS 1633PRO3	Sim	HS	P	SI	Agroeste
9	P-3310 VYHR	Sim	HS	SP	MT	Pioneer	39	UFPR 101	Não	Críoulo	SI	SI	-
10	FS 700PWU	Sim	HS	P	SI	Forseed	40	NK 488VIP3	Sim	HS	SP	SI	Syngenta
11	PRE 10A40VIP3	Sim	HS	SP	MR	Sempre	41	FS 670PWU	Sim	HS	P	SI	Forseed
12	UFPR 119	Não	Críoulo	SI	SI	-	42	NK FEROSVIP3	Sim	HD	P	SI	Syngenta
13	P 30R520VYHR	Sim	SI	SI	SI	Pioneer	43	NK 422VIP3	Sim	HS	SP	SI	Syngenta
14	ROXO CASSOL	Não	Críoulo	SI	SI	-	44	NK 555VIP3	Sim	HS	P	SI	Syngenta
15	AG 8480PRO3	Sim	HS	P	SI	Agrocerees	45	UFPR 19	Não	Críoulo	SI	SI	-
16	UFPR 26	Não	Críoulo	SI	SI	-	46	FS 505PWU	Sim	HS	P	SI	Forseed
17	MG 464PWU	Sim	SI	SI	SI	Morgan	47	NK 467VIP3	Sim	HS	SP	SI	Syngenta
18	GNZ 7740VIP3	Sim	SI	P	SI	Geneze	48	STINE 9602-20VIP3	Sim	HS	P	MS	Stine
19	ROXO POP 2	Não	Críoulo	SI	SI	-	49	MG 593PWU	Sim	HS	SP	SI	Morgan
20	AG 9000PRO3	Sim	HS	SP	T	Agrocerees	50	UFPR 73	Não	Críoulo	SI	SI	-
21	UFPR 108	Não	Críoulo	SI	SI	-	51	FS 564PWU	Sim	HS	P	SI	Forseed
22	PRE 20A12VIP3	Sim	HS	P	T	Sempre	52	MG 540PWU	Sim	HS	P	SI	Morgan
23	GNZ 7720VIP3	Sim	HS	P	SI	Geneze	53	UFPR 145	Não	Críoulo	SI	SI	-
24	FS 575PWU	Sim	HS	P	SI	Forseed	54	PRE 20A44VIP3	Sim	HS	P	MS	Sempre
25	ROXO POP 1	Não	Críoulo	SI	SI	-	55	P 3858PWU	Sim	HS	P	SI	Pioneer
26	NK STATUS VIP3	Sim	HS	P	SI	Syngenta	56	AS 1844PRO3	Sim	HS	P	MT	Agroeste
27	NK-EXPERI-1 VIP3	Sim	SI	SI	SI	Syngenta	57	UFPR 102	Não	Críoulo	SI	SI	-
28	UFPR 149	Não	Críoulo	SI	SI	-	58	NK 520VIP3	Sim	HS	P	SI	Syngenta
29	AS 1800PRO3	Sim	HS	SP	MT	Agroeste	59	PRE EXPERI-2 VIP3	Sim	SI	SI	SI	Sempre
30	UFPR 144	Não	Críoulo	SI	SI	-	60	UFPR 31	Não	Críoulo	SI	SI	-

Tipo de híbrido: HS = Híbrido Simples; HSM = Híbrido Simples Modificado; HD = Híbrido Duplo; SI = Sem Informação; ²Ciclo: P = Precoce; SP = Semi Precoce; SI = Sem Informação; ³Enfezamento: T = Tolerante; MT = Moderadamente Suscetível; MS = Moderadamente Resistente.

Determinação das variáveis produtivas

Para determinação das variáveis produtivas, foram colhidas as espigas de todas as plantas das linhas úteis das parcelas, separando-se aquelas oriundas de plantas doentes (marcadas com tinta spray na cor vermelha) e sadias (plantas não marcadas). Anteriormente a colheita, foram medidos os teores de Clorofila a, b e total nas plantas doentes e sadias, no estágio R2, utilizando um medidor de clorofila portátil, modelo clorofiLOG CFL-1030 (Falker Automação Agrícola Ltda.), com cinco medições por parcela no centro de cada folha da espiga.

Após a colheita foram avaliadas as seguintes variáveis das espigas provenientes das plantas doentes e sadias: i) comprimento das espigas (CE) em centímetros; ii) diâmetro das espigas (DE) em milímetros; iii) número de fileira de grãos (NFG); iv) número de grão por fileira (NGF). Após a avaliação das variáveis descritas acima, as espigas foram debulhadas com auxílio de um debulhador manual. Foram determinadas a umidade dos grãos de cada parcela antes da avaliação do peso de 100 sementes (P100) e a produtividade (kg ha^{-1}) os quais foram obtidos considerando a umidade padrão de 13%. O rendimento potencial (RP) foi obtido pela divisão do peso total de grãos das espigas sadias pelo número de espigas sadias e multiplicado esse valor pelo número total de espigas. O rendimento real (RR) foi obtido através da soma do peso dos grãos das espigas sadias e do peso dos grãos das espigas doentes. A estimativa dos danos (D) foi obtida subtraindo-se do RP o RR (Reis et al. 2004).

Análise estatística

Primeiramente os dados foram submetidos aos testes de homogeneidade de variância e distribuição normal (Kolmogorov-Smirnov and Shapiro-Wilk). Posteriormente, os mesmos foram submetidos a Anova considerando como fatores os genótipos e a situação (sadio/doente). Para o desdobramento dos genótipos dentro de cada situação (sadio/doente) foi aplicado o teste de Scott-Knott e para avaliar a situação (sadio/doente) foi aplicado o teste LSD (Least Significant Difference). Para todos os testes foram considerados um nível de significância de 5% de probabilidade ($P \geq 0,05$). Todas as análises foram realizadas com o auxílio do software Sisvar (Ferreira 2014).

Foi realizada também uma análise de regressão considerando a incidência (%) e severidade (%) como variáveis independentes e a produtividade média (kg ha^{-1})

como variável dependente. Foi utilizada a equação com o maior R^2 como critério de ajuste do melhor modelo de regressão, pelo pacote R Core Team, Kolde R (2019).

Uma análise de regressão múltipla foi realizada para avaliar os fatores que afetam a produtividade do milho. Para isso, foram avaliadas três situações: i) considerando apenas a produtividade média das plantas saudas; ii) considerando apenas a produtividade média das plantas doentes e iii) considerando apenas a produtividade média (saudas e doentes). As variáveis independentes usadas para modelar a produtividade (kg ha^{-1}) foram: incidência (%), severidade (%), comprimento (cm) e diâmetro (mm) de espigas, número de fileiras de grãos (NFG), número de grãos por fileira (NGF), peso de 100 grãos (P100) (g) e nível de dano (Rendimento real – Rendimento potencial). Como critério para serem adicionadas no modelo as variáveis tiveram que atender a um nível de significância de 5% ($P \leq 0,05$) para entrada no modelo. Para as análises de regressão múltipla foi utilizado o software Jamovi (Version 1.6) The Jamovi project (2021).

Uma análise de componentes principais (PCA) foi realizada para agrupar os genótipos em função das plantas doentes e saudas. Para esta análise, as variáveis utilizadas foram padronizadas ($\mu = 0$, $\sigma = 1$) para assegurar a proporcionalidade dos efeitos. Os pacotes FactoMineR e Factoextra (Kassambara e Mundt, 2019) do R Core Team (2022) foram utilizados para plotar os gráficos dos genótipos individuais agrupados pela incidência dos enfezamentos (doentes e saudas) e a contribuição das variáveis analisadas.

Foi também utilizado o pacote pheatmap R (versão 0.7.7) para a construção do gráfico de calor (heatmap). O agrupamento foi construído pela análise de K-means, com os pacotes tidyverse (Wickham et al., 2019) e factoextra (Kassambara and Mundt 2019) e o dendrograma foi construído com o pacote pheatmap (Kolde 2019).

RESULTADOS

Houve diferença estatística entre os genótipos avaliados para a incidência ($F = 9,559$ e $P < 0,0000$) e severidade ($F = 12,233$ e $P < 0,0000$) ao enfezamento (Figura 1). Entre os genótipos avaliados houve uma alta incidência de enfezamento para os genótipos UFPR-76, NK 488VIP3, NK 422VIP3, 9602-20VIP3, SEMPRE 10A40PWU, UFPR-26, AS 1800PRO3, AS 1844PRO3, FS 564PWU e UFPR101, enquanto que os genótipos B 2702PWU, FS 505PWU, SEMPRE 10A40VIP3, DKB 360PRO3, FS 57PWU, NK DEFENDER VIP3, MG 540PWU, BNZ 7788VIP3 apresentaram os menores índices de incidência, com destaque para GNZ 7788VIP3 que não apresentou sintomas de enfezamento (Figura 1A). Os genótipos UFPR 26 e UFPR 76, além de maior incidência apresentaram também maior severidade de enfezamento entre os genótipos avaliados (Figura 1B). Entre os genótipos com menor incidência todos apresentaram também menores índices de severidade, haja visto que a correlação de Pearson entre estas variáveis foi positiva e significativa ($r = 0,58$; $P < 0,004$). Entre os grupos crioulos e comerciais não houve diferença estatística para incidência (Figura 1A) de enfezamento, porém para severidade (Figura 1B) os crioulos se mostraram de forma geral menos tolerantes (teste t; $P < 0,05$).

Aproximadamente 13% dos genótipos avaliados apresentaram baixa incidência (menos de 15% das plantas com sintomas) de enfezamentos (Figura 1A). Estes genótipos podem ser importantes para programas futuros de melhoramento como fontes de resistência. Em aproximadamente 68% dos genótipos a severidade de enfezamentos foi baixa (Figura 1B).

Houve diferença estatística entre os genótipos para os teores de clorofila a (Figura 2A), b (Figura 2B) e total (Figura 2C). De maneira geral, as plantas doentes apresentaram menores teores de clorofila a, b e total em relação às plantas sadias teste t ($P < 0,05$), entretanto, cada genótipo teve uma resposta específica.

O complexo dos enfezamentos causou uma redução nos caracteres CE e DE (Figura 3A e 3B), como pode ser observado pela diferença significativa ($P < 0,05$) entre as plantas doentes em relação às sadias, para 45% e 52% genótipos, respectivamente. O CE médio das plantas sadias foi de 16,32 cm, enquanto as plantas doentes apresentaram uma redução de 18,4% no CE (Figura 3A). O enfezamento também diminuiu o DE em aproximadamente 13,2% (Figura 3B). Não houve diferença estatística entre os grupos crioulos e comerciais estes caracteres.

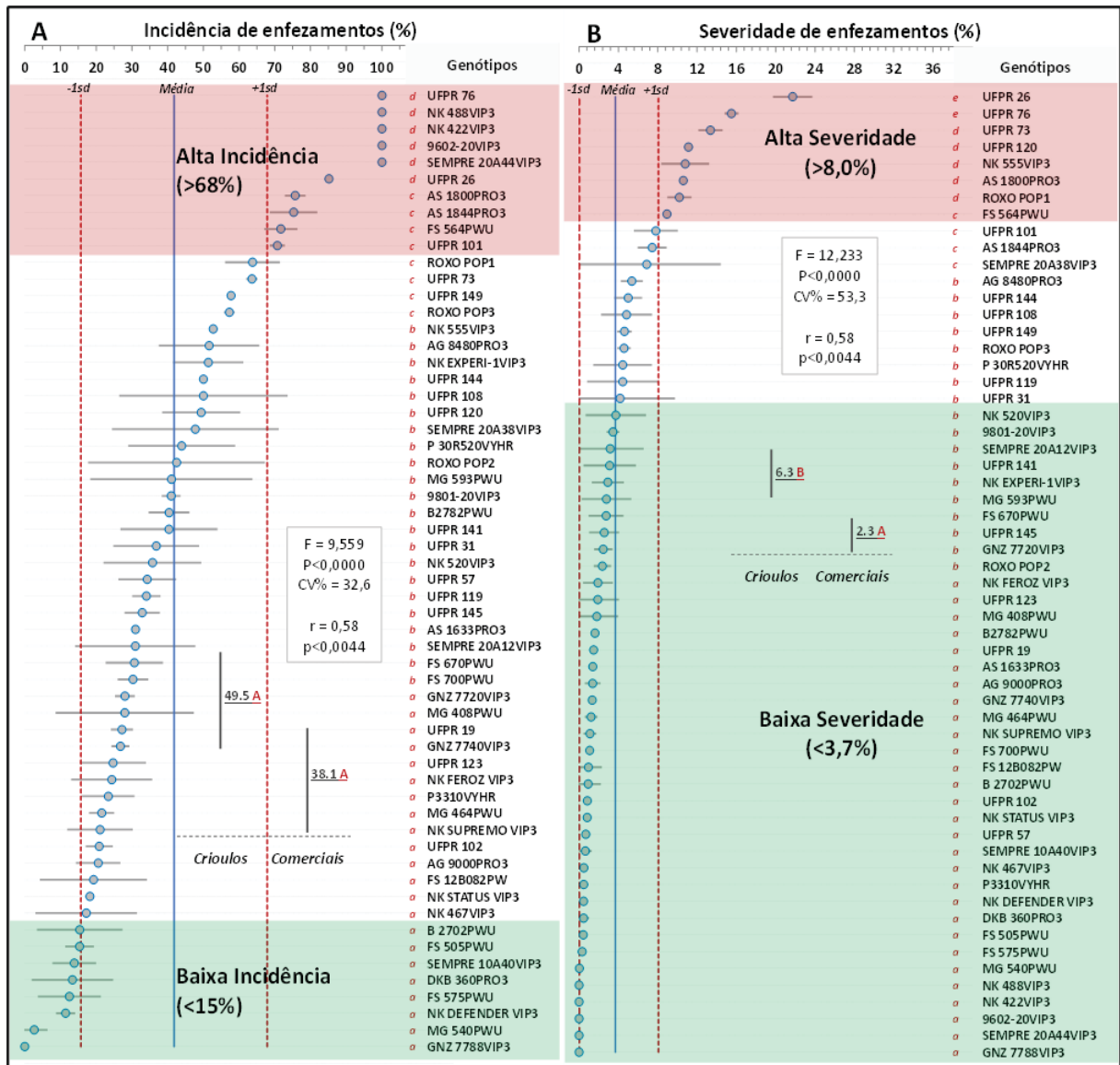


Figura 1. Incidência e severidade de enfezamento em genótipos de milho. As médias dos genótipos são representadas pelos círculos em cinza e seguidos dos desvios padrões (barras horizontais). A linha vertical em azul representa a incidência (A) e severidade (B) média. As linhas verticais tracejadas representam os desvios padrões (positivo: +1sd; e negativo: -1sd). As barras verticais representam os desvios padrões dos grupos de genótipos (Crioulo e Comerciais), onde as letras diferentes são significativas pelo teste t ($P < 0,05$). Genótipos seguido de letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$). r: representa a correlação de Pearson ente Incidência e Severidade.

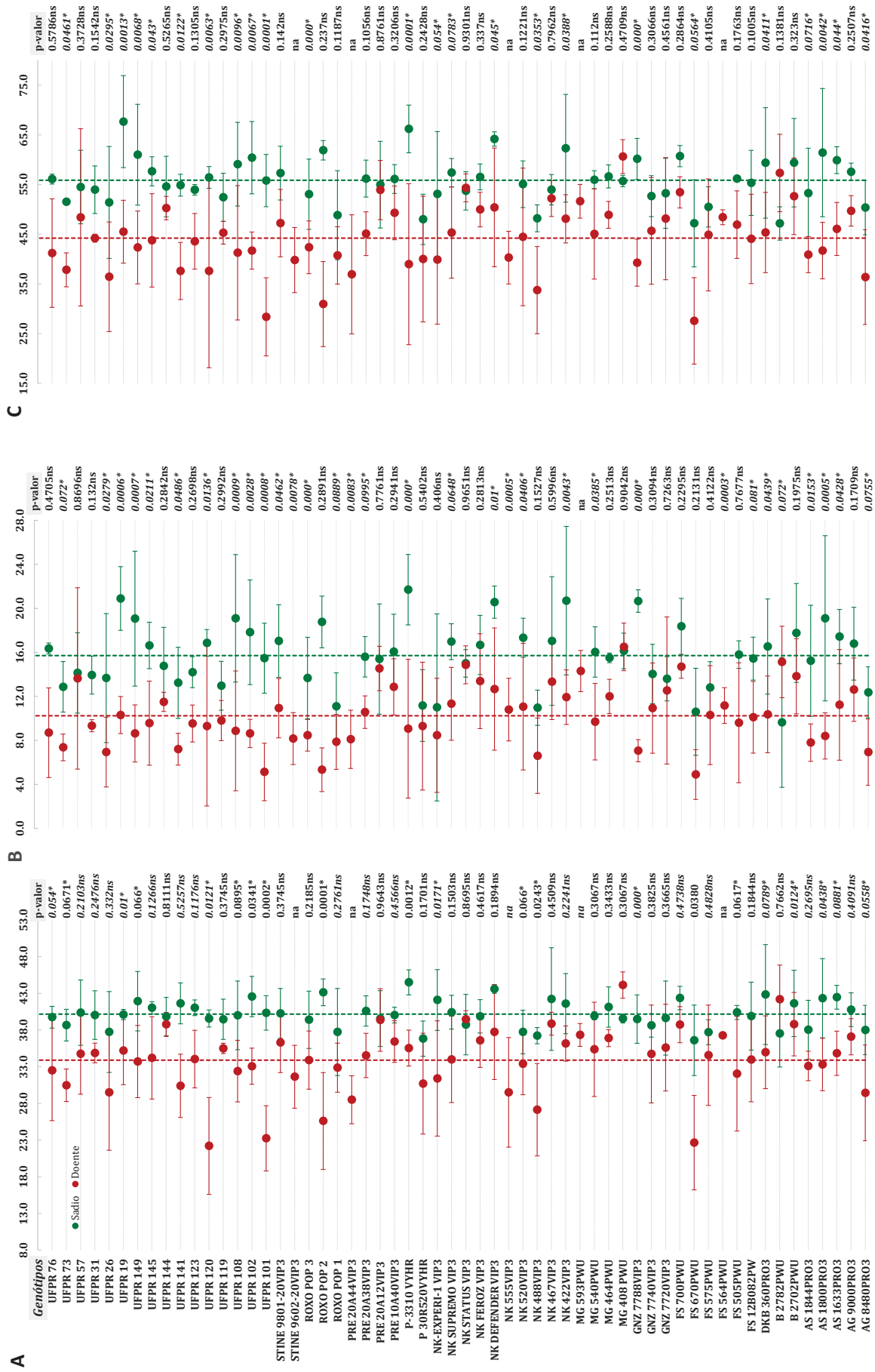


Figura 2. Teores de clorofila a (A), b (B) e total (C) dos genótipos avaliados. As médias são representadas pelos círculos (vermelho = doente, verde = sadio) seguidos de barras horizontais (desvio padrão). As linhas verticais tracejadas representam a média das plantas doentes (ve melho) e sadias (verde).

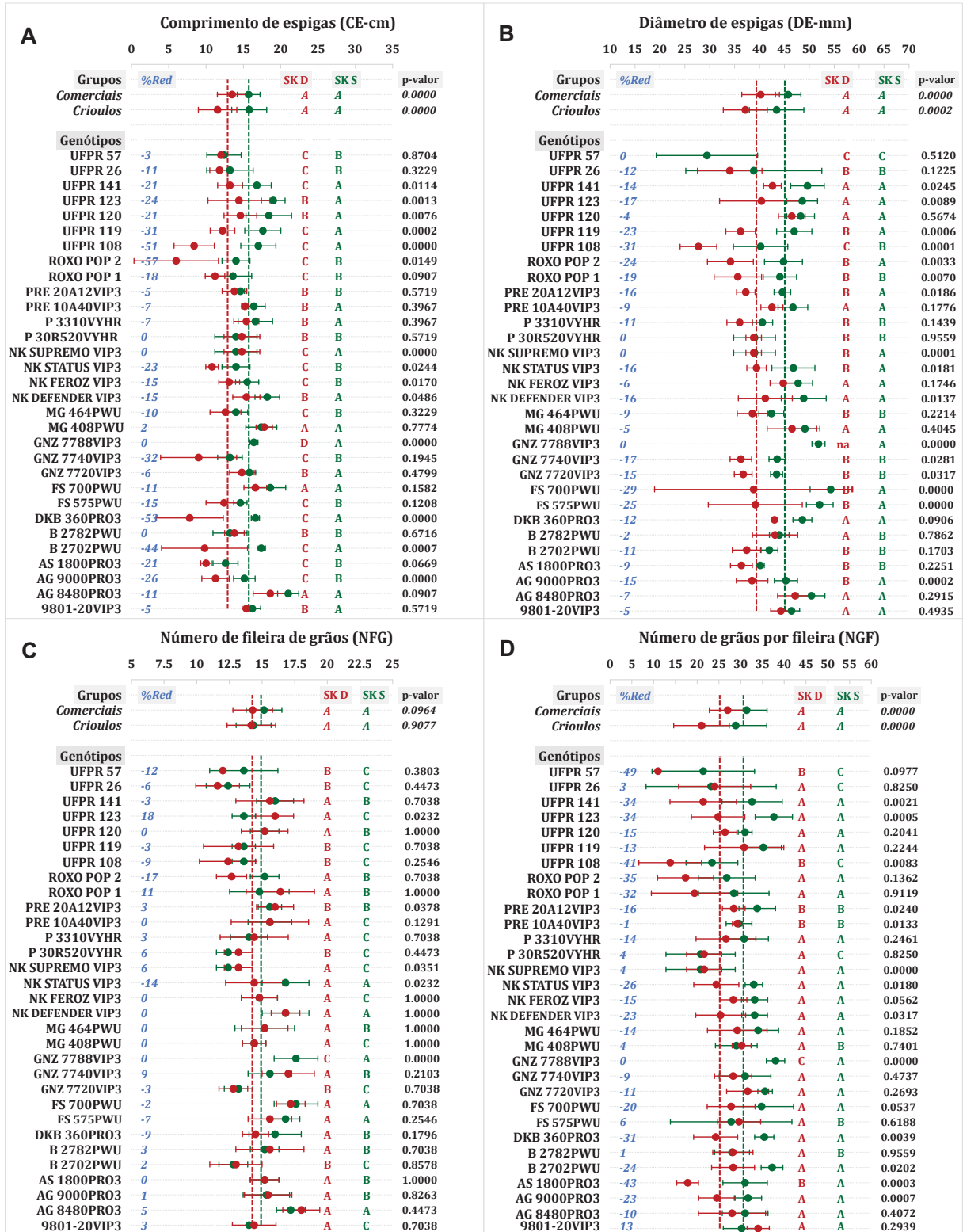


Figura 3. Desempenho médio dos genótipos avaliados considerando os parâmetros A) comprimento das espigas (cm), B) diâmetro das espigas (mm), C) número médio de fileiras de grãos e D) número médio de grãos por fileira. As médias são representadas pelos círculos (vermelho = doente, verde = sadio) seguidos de barras horizontais (desvio padrão). As linhas verticais tracejadas representam a média das plantas doentes (vermelho) e sadias (verde). Genótipos seguidos de letras diferentes (SK D: plantas doentes; SK S: plantas sadias) indicam diferença significativa pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$). p-valor: indica diferença significativa pelo teste t ($P < 0,05$) para comparação entre as plantas doentes e sadias dentro dos genótipos. % Red: indica a porcentagem de redução de cada variável ($\%Red = [(Doentes/Sadias) * 100]$).

Para as variáveis NFG e NGF plantas com enfezamento apresentaram uma redução média de 6,5% e 19,2%, respectivamente (Figura 3C e 3D). As maiores reduções em NFG foram observadas para os genótipos ROXO POP2 (-17%), UFPR 57 (-12%), NK STATUS VIP3 (-14%) e DKB 360PRO3 (-9%). Entretanto, para o NGF a incidência de enfezamento nas plantas ocasionou reduções mais acentuadas como pode-se observar para os genótipos UFPR 57 (-49%), AS 1800PRO3 (-43%), UFPR 108 (-41%), UFPR 141 (-34%), DKB 360PRO3 (-31%), NK STATUS VIP3 (-26%) e NK DEFENDER VIP3 (-23%). Não houve diferença estatística entre os grupos crioulos e comerciais para estes caracteres.

Para a variável P100 (Figura 4) os genótipos UFPR 26, UFPR 108 e FS 575PWU diferem estatisticamente (pelo teste de Scott-Knott $P < 0,05$), sendo as parcelas com maior peso entre as plantas saudias em contraste com os genótipos P 30R520 VYHR, MG 464PWU, GNZ 7740VIP3 e AS 1800PRO3 que apresentam os menores pesos entre as plantas saudias. Para as plantas doentes destaca-se B 2782 PWU como o genótipo com maior P100 em contraste com ROXO POP1 e P 30R520 VYHR que apresentaram os menores pesos entre as plantas doentes (Figura 4). Os híbridos comerciais diferiram estatisticamente (pelo teste t, $P < 0,05$) entre plantas doentes e saudias quanto ao P100, com maior valor para plantas saudias. Houve também diferença estatística (pelo teste t, $P < 0,05$) nas plantas saudias entre os grupos comercial e crioulos com maior P100 para os crioulos. Avaliando a porcentagem de redução de P100 destacam-se UFPR 108 e GNZ 7740VIP3 com mais de 50% de redução no peso devido a ocorrência de enfezamento e os genótipos UFPR 57, GNZ 7788 VIP3 e B 2782 PWU que não apresentaram redução no peso devido a ocorrência de enfezamento. A redução média de P100 causada pelo complexo dos enfezamentos foi de 28,8% (Figura 4).

Conforme Figura 5 percebe-se redução da produtividade para as plantas doentes em relação às plantas saudias para o grupo de genótipos comerciais (-333 kg ha¹) e para o grupo de genótipos crioulos (-871 kg ha¹). Os genótipos com os maiores danos de produtividade provocados pelo enfezamento foram: UFPR 26, AS 1800PRO3, ROXO POP1 e UFPR 120 com redução de produtividade estimada em 2664, 1204, 1086 e 1081 kg ha¹, respectivamente. Os genótipos GNZ 7788VIP3 e PRE 20A12VIP3 não apresentaram reduções da produtividade pelo complexo de enfezamento, sendo que o genótipo GNZ 7788VIP3 não teve nenhuma planta com incidência de enfezamento (Figura 1A), além de ser o mais produtivo entre os

genótipos avaliados (Figura 5). A redução média de produtividade causada pelo complexo dos enfezamentos foi de 11,6% (Figura 5). Com relação a safra de 2021, com exceção dos híbridos P3310 VYHR e AS 1800 PRO3 as parcelas de forma geral tiveram produtividade inferior as plantas doentes da safra de 2022 (Figura 5).

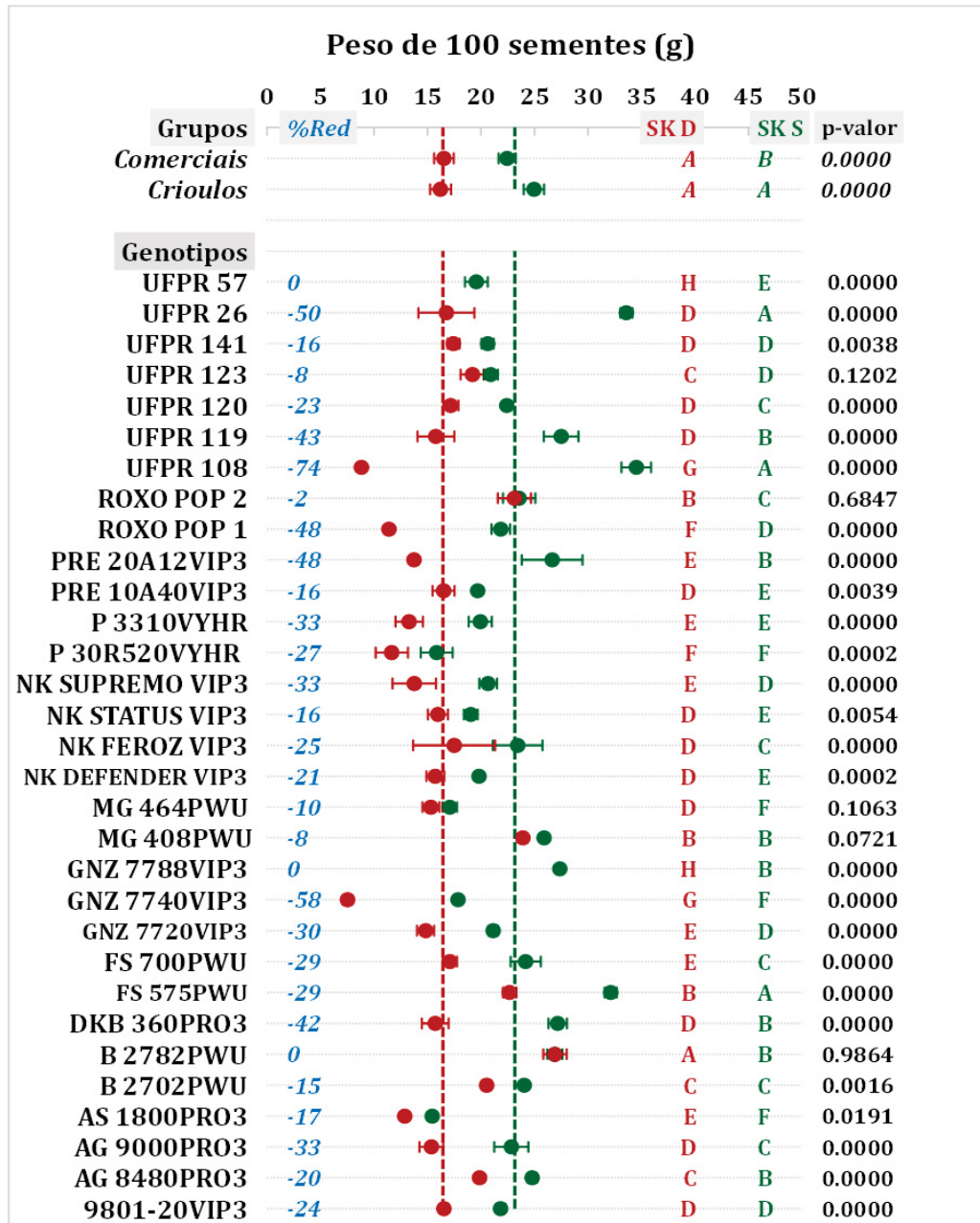


Figura 4. Peso de 100 sementes dos genótipos avaliados. As médias são representadas pelos círculos (vermelho = doente, verde = sadio) seguidos de barras horizontais (desvio padrão). As linhas verticais tracejadas representam a média das plantas doentes (vermelho) e sadias (verde). Genótipos seguido de letras diferentes (SK D: plantas doentes; SK S: plantas sadias) indicam diferença significativa pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$). p-valor: indica diferença significativa pelo teste t ($P < 0,05$) para comparação entre as plantas doentes e sadias dentro dos genótipos. % Red: indica a porcentagem de redução do P100 (g) das plantas doentes ($\%Red = [(P100\ Doentes/P100\ Sadias) * 100]$).

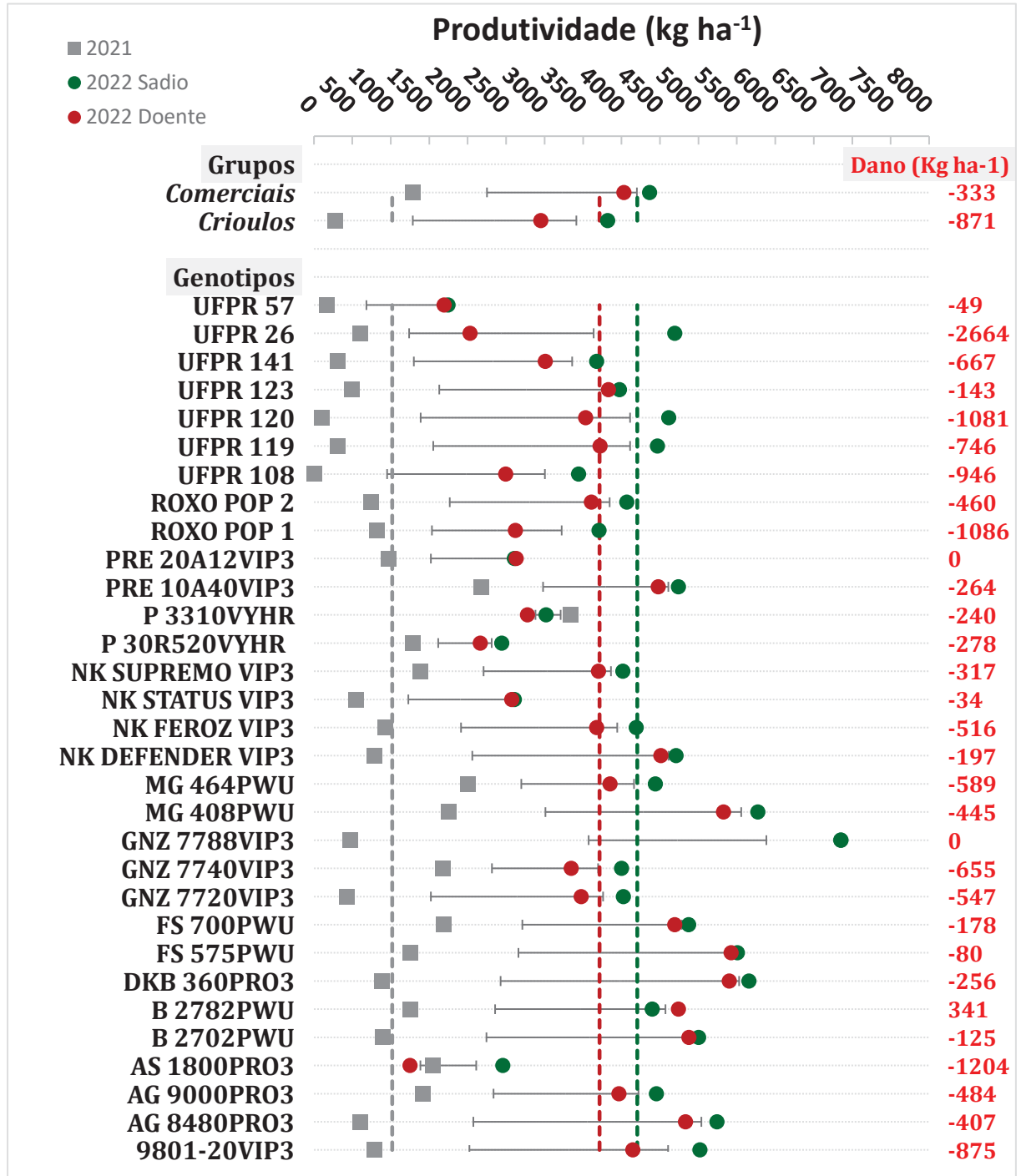


Figura 5. Produtividade média dos genótipos avaliados na safra de 2021 e 2022 (segunda safra). As médias são representadas pelos círculos (vermelho = doente, verde = sadio) seguidos de barras horizontais (desvio padrão). As linhas verticais tracejadas representam a média das plantas doentes (vermelho), sadias (verde) e da média de 2021 (cinza). Dano indica a redução da Produtividade (kg ha⁻¹) das plantas doentes (Dano = Rendimento real – Rendimento potencial).

A incidência e a severidade do complexo dos enfezamentos afetaram negativamente ($P < 0,05$) a produtividade média dos genótipos de milho avaliados (Figura 6).

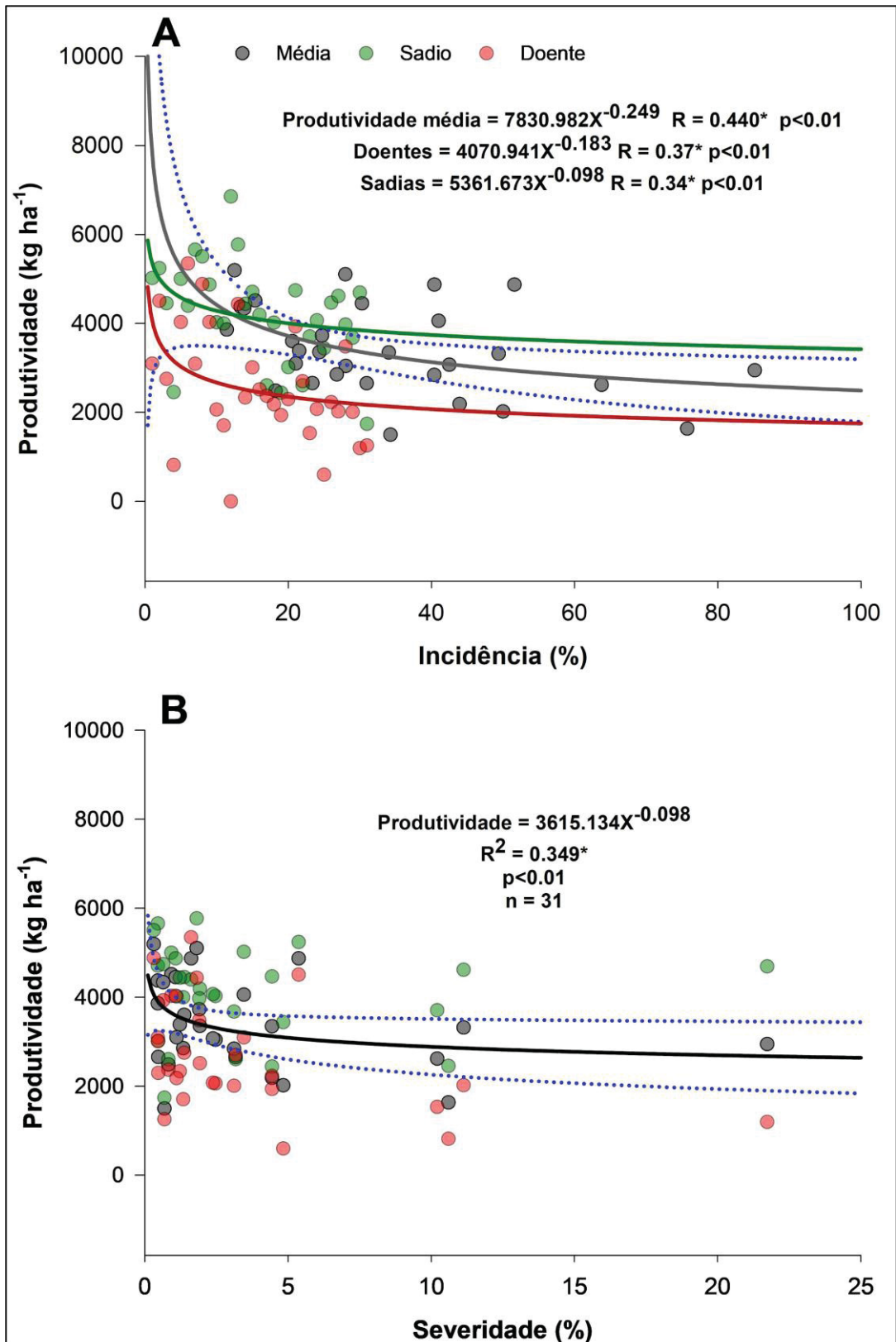


Figura 6. Produtividade média em função da porcentagem de incidência (A) e severidade (B) de enfezamentos. Para ambas as situações (incidência e severidade) uma equação não linear Power foi estimada em função da produtividade média. Linhas pontilhadas em azul indicam o intervalo de confiança (IC) a 95% de probabilidade para a equação estimada.

Pela análise de regressão múltipla foi possível verificar que a incidência de enfezamentos afetou negativamente ($P < 0,05$) a produtividade das plantas saudas, doentes e a produtividade média dos genótipos (Tabela 2).

Tabela 2. Análise de variância do modelo de regressão múltipla para produtividade (kg ha^{-1}) das plantas de milho saudas, doentes e média, usando as seguintes variáveis independentes: incidência (%), severidade (%), P100_D¹ (g), P100_S² (g), CE³ (cm), NFG⁴ e Dano (RR – RP).

Termo ⁵	Estimativa	EP ⁶	t valor	P \geq t
Plantas Saudas				
Intercepto	-198.148	1230.114	-0.161	0.873
Incidência	-17.461	7.670	-2.276	0.031
CE	172.704	68.963	2.504	0.019
P100	76.009	31.375	2.423	0.023
Dano	-0.310	0.107	-2.896	0.008
Plantas Doentes				
Intercepto	-3490.3	1038.11	-3.36	0.003
Incidência	-20.8	5.27	-3.94	< .001
CE	77.2	35.10	2.20	0.038
NFG	198.2	65.87	3.01	0.006
P100	181.5	22.95	7.91	< .001
Produtividade Média				
Intercepto	-4479.6	1264.13	-3.54	0.002
Incidência	-14.7	5.61	-2.62	0.015
CE	117.6	49.81	2.36	0.026
NFG	243.0	61.10	3.98	< .001
P100	155.9	29.04	5.37	< .001

¹Peso de 100 grãos de plantas doentes. ²Peso de 100 grãos de plantas saudas. ³Comprimento de espigas. ⁴Número de fileira de grãos. ⁵As variáveis que não apresentaram efeito significativo ($P > 0,05$) para a Produtividade (Kg ha^{-1}), foram excluídas do modelo. ⁶EP = Erro padrão.

As variáveis CE e P100 contribuíram positivamente ($P < 0,05$) para a produtividade das plantas saudas, enquanto CE, NFG e P100 influenciam positivamente ($P < 0,05$) a produtividade média e das plantas doentes dos genótipos avaliados. Todos os modelos de regressão múltipla apresentaram ajustes

significativos ($P < 0,01$; Tabela 3). O modelo de regressão múltipla de previsão da produtividade das plantas doentes foi: $Y = -3490,3 - 20,8INC + 77,2CE + 198,2NFG + 181,5P100$, que explicou 82,1% da variabilidade observada (Tabela 2 e 3). Para a produtividade média dos genótipos o modelo ajustado foi $Y = -3490,3 - 20,8INC + 77,2CE + 198,2NFG + 181,5P100$.

Tabela 3. Medidas de ajuste dos modelos avaliados pela regressão múltipla.

Modelo	R	R ²	R ² Ajust	AIC	BIC	RMSE	Anova para os modelos			
							F	GI1	GI2	p
Sadios	0.76	0.59	0.527	506	515	702	9.3	4	26	< .001
Doente	0.92	0.84	0.821	450	458	459	33.	4	24	< .001
Média	0.84	0.71	0.670	488	496	519	16.	4	26	< .001

Pela análise de PCA, foi possível separar os genótipos de acordo com os grupos distintos das plantas doentes e sadias, demonstrando que os enfezamentos afetam significativamente o desempenho da cultura do milho. Os dois primeiros eixos explicam aproximadamente 72,2% da variação total (Figura 7A). O primeiro eixo (PCA1) explica 55,2% da variação e foi correlacionado negativamente com as variáveis RP, RR e NGF (Figura 7B). O segundo eixo (PCA2) explica aproximadamente 17% da variação e foi correlacionado com as variáveis NFG, CE, DE e P100. Podemos observar uma alta correlação entre as variáveis RR e RP com o genótipo GNZ 7788VIP3 (Figura 7A e 7B), no qual a incidência de enfezamentos foi nula. Entretanto, estas mesmas variáveis (RR e RP) foram negativamente correlacionadas com os genótipos UFPR 57 e UFPR 108 ambos do grupo de plantas doentes (alta incidência de enfezamentos). Além disso, as variáveis avaliadas neste estudo apresentaram alta correlação com as plantas sadias dos genótipos avaliados (Figura 7A e 7B), enquanto nas plantas doentes destes mesmos genótipos a correlação foi menor. As variáveis RR e RP foram as que mais contribuíram para a variabilidade encontrada neste estudo (Figura 7B).

Pelo heatmap é possível observar a associação entre os genótipos e as características investigadas (Figura 7C). Portanto, foi perfeitamente possível separar as variáveis avaliadas das plantas sadias e doentes em grupos distintos. Adicionalmente, os genótipos foram agrupados em quatro grupos, onde os genótipos GNZ 7788VIP3 (híbrido comercial) e UFPR 57 (Crioulo) formaram grupos isolados

(Figura 7C). Não foi possível separar os genótipos em grupos comerciais e crioulos. Os híbridos comerciais MG 464PWU, 9801-20VIP3, PRE 10A40VIP3, DKB 360PRO3 e NK DEFENDER VIP3 foram os que apresentaram maiores correlações com as variáveis produtivas RR e RP entre as plantas com alta incidência de enfezamentos. O híbrido B 2782PWU foi o que apresentou correlação alta com P100 dentre as plantas doentes (Figura 7C). Entre as plantas saudias, destaca-se o híbrido GNZ 7788VIP3 com altas correlações com as variáveis produtivas RR e RP.

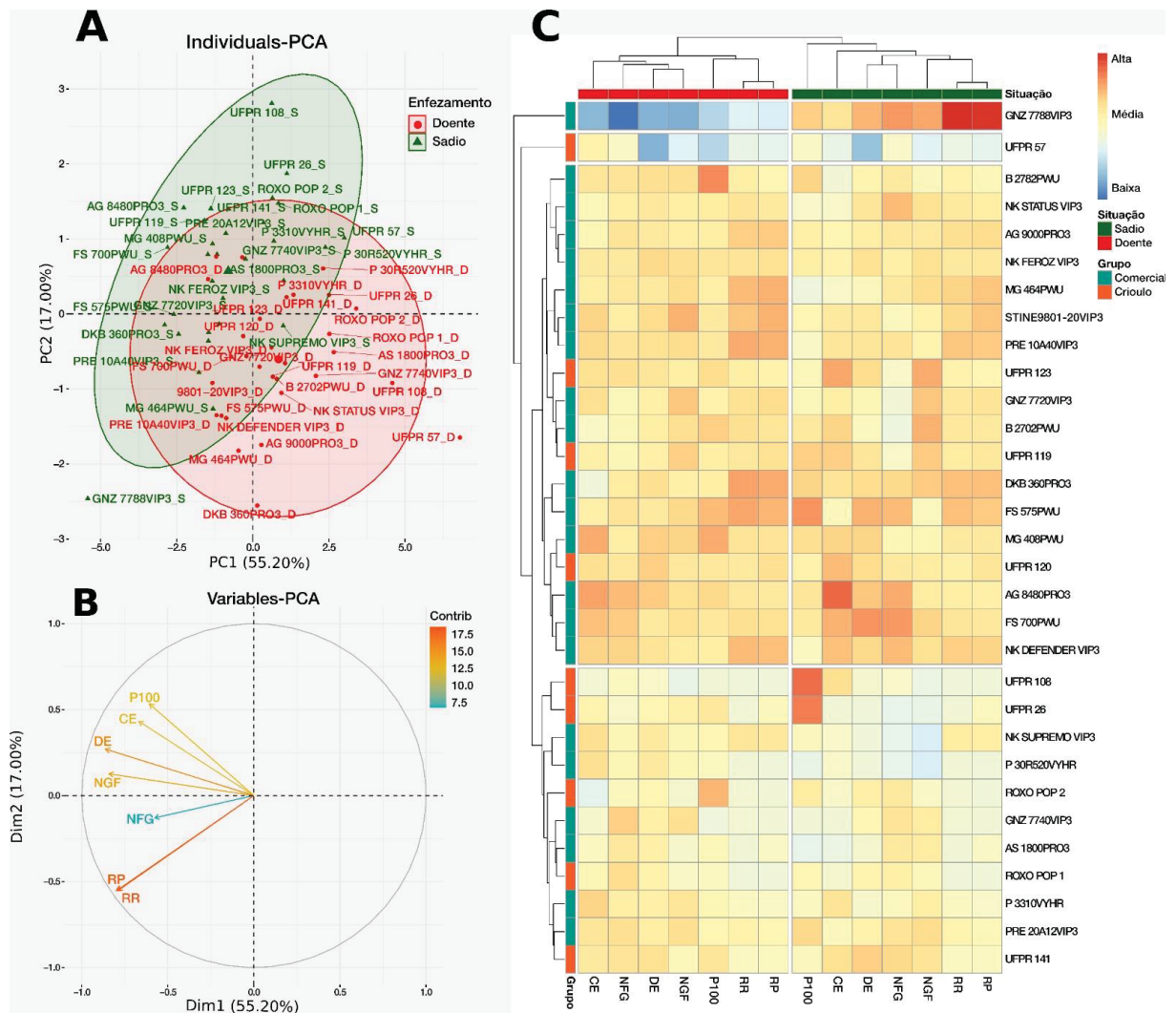


Figura 7. Análise de componentes principais (PCA) e heatmap para os genótipos e variáveis avaliadas. A) Análise de PCA dos genótipos individuais agrupados pela incidência dos enfezamentos (doentes e saudios). B) Análise de PCA apresentando a contribuição das variáveis analisadas. C) Heatmap dos genótipos e das variáveis relacionadas com a produtividade. Anotações no topo do heatmap mostram o agrupamento dos genótipos (Grupo: Comerciais e Crioulos) e variáveis produtivas (Situação: plantas doentes e saudias). NFG: Número de fileira de grãos. CE: Comprimento de espigas. P100: Peso de 100 grãos. DE: Diâmetro de Espigas. NGF: Número de grãos por fileira. RP: Rendimento potencial. RR: Rendimento real.

DISCUSSÃO

Avaliando-se a incidência dos enfezamentos nos genótipos do estudo percebe-se níveis de 0 até 100% das plantas infectadas (Figura 1A). Isso demonstra a grande heterogeneidade dos materiais disponíveis para cultivo, visto que sob as mesmas condições ambientais e temporais a resposta frente aos patógenos é diferente entre os genótipos, indicando assim quais materiais podem servir de referência para identificação de fontes de resistência genética aos enfezamentos. Estudo de Costa et al. (2019) têm mostrado que sob as mesmas condições alguns híbridos podem apresentar incidência de enfezamento do milho inferior a 10%, enquanto outros podem atingir mais de 65% de plantas infectadas. Como os híbridos comerciais de milho apresentam diferentes graus de resistência a doenças do complexo dos enfezamentos do milho, a semeadura de híbridos que são mais resistentes a esses patossistemas também pode reduzir os riscos de perda de produção (Oliveira e Frizzas 2022).

O híbrido comercial GNZ 7788 VIP3 não apresentou sintomas de enfezamento, na literatura não foram encontrados outros trabalhos envolvendo a análise de ocorrência do complexo do enfezamento para este genótipo. Portanto, este híbrido demonstrou neste estudo grande potencial para futuros trabalhos sobre resistência aos enfezamentos, sendo possível que apresente determinado nível de resistência ou não manifeste sintomas visuais. Existe a possibilidade do genótipo não expressar diretamente os sintomas e sofrer perdas em produtividade, este fato pode estar atrelado a própria genética que limita a produtividade, assim como constatado por Cota et al. (2018) com o híbrido RB 9108 PRO, o qual mesmo apresentando uma nota de dano intermediária, foi um dos híbridos que menos produziu. Em nosso trabalho este fato foi observado com o genótipo NK STATUS VIP3 que apresentou baixo nível de incidência do complexo de enfezamentos (Figura 1), e entretanto, apresentou uma das menores produtividades (2.500 kg ha^{-1} , Figura 5).

Cerca de 13% dos genótipos avaliados apresentaram baixa incidência de enfezamento, corroborando com outros trabalhos em que apontam que os híbridos comerciais de milho não apresentam boa resistência ao complexo do enfezamento (Costa et al 2019; Jones e Medina, 2020; Oleszczuk et al 2020). Como demonstrado em estudos de Oliveira et al (2002), diferentes híbridos com índices de incidência iguais de enfezamentos podem responder de maneira distinta a infecção, alguns se

desenvolvendo melhor, apresentando menores perdas de produtividade, enquanto outros são completamente comprometidos. Genótipos com níveis semelhantes de incidência e severidade dos sintomas podem atingir rendimentos diferentes (Hidalgo et al, 1998; Oliveira et al., 2002). Isso tem sido descrito como tolerância do hospedeiro, ou a capacidade de obter rendimento apesar dos danos causados pelo enfezamento do milho (Oleszczuk et al. (2020). Segundo Jones e Medina (2020) ainda há necessidade de estudos mais abrangentes do complexo de enfezamentos do milho, o que pode abrir caminho para a descoberta de novos alvos moleculares para o controle genético de pragas visando tanto o inseto vetor quanto o fitopatógeno.

Ao comparar os grupos de milhos crioulos com comerciais evidencia-se que os híbridos comerciais apresentaram menor incidência da doença, estando, portanto, mais adaptados para resistir ao complexo do enfezamento. Entretanto, a busca por fontes de resistência deve considerar cada genótipo individualmente para avançar nas pesquisas e tecnologias, não sendo dispensável a análise de milhos crioulos, principalmente os que se mantiveram produtivos por ocasião da infecção.

Os teores de clorofila foram menores para as plantas doentes em relação as plantas saudas, indicando impactos metabólicos em plantas contaminadas reduzindo assim a sua capacidade fotossintética, o que por sua vez limita o desenvolvimento e produção. Segundo Junqueira et al. (2011) a incidência de enfezamentos no milho pode provocar alterações em compostos dos tecidos vegetais como proteínas, compostos fenólicos e clorofila, o que resulta em alterações morfológicas. Esta característica pode ser um indicador de níveis de resistência/tolerância ao complexo do enfezamento, visto que o presente trabalho demonstrou variação significativa para 24 genótipos entre os avaliados (Figura 2).

Sobre os caracteres comprimento de espigas e diâmetro de espigas a incidência de enfezamentos reduziu o desenvolvimento dos genótipos em 45% e 52%, respectivamente. Estas características estão diretamente relacionadas com parâmetros produtivos por comporem a estrutura do produto comercial, impactando, portanto, em redução da produtividade. O mesmo foi observado para os caracteres NFG e NGF que também tiveram seus valores reduzidos em 6,5% e 19,2%, respectivamente. Com o menor desenvolvimento da espiga (avaliado por CE, DE, NFG e NGF), menor será a quantidade de grãos a serem formados, e quando somado a característica de redução de peso de grãos, os impactos produtivos tornam-se significativos para o cultivo comercial. Observou-se diferença entre o grupo de

híbridos comerciais e crioulos para NFG e NGF o que pode indicar alterações na fertilidade, produção e desenvolvimento de pólen e estigmas, visto ser uma etapa crucial para o desenvolvimento dos grãos, sendo que os milhos crioulos apresentaram maiores reduções para estes caracteres entre os genótipos avaliados.

A análise do P100 permitiu identificar UFPR 26, UFPR 108 e FS 575 PWU como os genótipos que apresentaram grãos mais pesado, com destaque para FS 575 PWU que também foi um dos genótipos com menor redução na produtividade, sendo observado a diferença de 80 kg ha⁻¹ entre as plantas sadias e doentes (Figura 5). Entre os genótipos com maior e menor valor de P100 não se diferenciam grupos de híbridos e crioulos, sendo que ambas as condições ocorrem para os dois grupos de genótipos.

Ao observar a Figura 7A, que agrupa os híbridos pelos sintomas de enfezamento, foi possível observar dois grupos: um com maior incidência de sintomas e menor produtividade (à direita) e outro com menor incidência de sintomas e maiores produtividades (à esquerda). Este fato corrobora com Oliveira et al (2002) que demonstraram comportamentos heterogêneos entre os híbridos comerciais. Portanto, existem no mercado genótipos que podem servir como fontes de resistência ao complexo do enfezamento, garantindo que híbridos com bom nível de resistência sejam plantados pelos agricultores sempre que a doença ocorrer. Com destaque para o híbrido GNZ 7788 VIP3 que não manifestou sintomas de incidência do complexo do enfezamento e demonstrou maior produtividade com 6.853 kg ha⁻¹.

A produtividade foi afetada pela incidência do complexo do enfezamento, sendo que quanto maior a incidência menor foi a produtividade (Figura 6A), corroborando com Cota et al. (2018), os quais verificaram que, apesar da produtividade ser uma característica própria de cada genótipo, a produção de grãos se correlacionou negativamente com a severidade do enfezamento, com diferenças quanto a tolerância à doença entre os híbridos.

A produtividade da safra de 2022 foi superior a produtividade da safra anterior para todos os materiais estudados com exceção de P 3310 VYHR (Figura 5). Esse resultado pode ser atribuído a condições ambientais (Anexo 1), visto que por ocorrência de expressiva escassez hídrica e altas temperaturas as plantas tiveram seu desenvolvimento comprometido e ainda conforme sugere Sabato et al (2020) as temperaturas influenciam o potencial de infecção e período de latência de *S. kunkelii* e MBS-phytoplasma, indicando que a ocorrência de altas temperaturas elevam a

velocidade de infecção das plantas, enquanto que a manutenção de baixas temperaturas aumenta o período de latência dos organismos.

A capacidade de sobrevivência de *D. maidis* a invernos amenos em plantas de milho remanescentes ou outras gramíneas de inverno é indicado por Carloni et al. (2021) como um fator que corrobora com a rápida recuperação da população do vetor com a elevação das temperaturas e facilitando a infecção das plantas de milho já nos estágios iniciais, causando maiores danos. Corroborando com Oleszczuk et al. (2020) que investigando componentes de resistência ao enfezamento do milho identificou diferenças em seus níveis de resistência e organismo-alvo, seja para o inseto vetor ou para o patógeno.

A redução da produtividade foi impactada principalmente pela incidência do complexo de enfezamento (Tabela 2) e os caracteres que mais contribuíram com a redução da produtividade foram comprimento de espigas, número de fileiras de grãos e peso de 100 grãos. Conforme Figura 3 percebe-se que para alguns genótipos a incidência da doença acarretou o incremento isolado de algumas características como o número de fileiras de grãos e número de grãos por fileira, porém para todos os genótipos ocorreu redução no peso de 100 grãos (Figura 4, comprimento e diâmetro de espigas (Figura 4) e conseqüentemente redução de produtividade, o que indica alterações fisiológicas na formação das espigas e enchimento de grãos causadas pelo complexo do enfezamento.

A incidência do complexo dos enfezamentos afetou mais significativamente a produtividade, quando comparada a severidade dos sintomas (Figura 6), assim como Oliveira (2003) fez estimativas de perdas de produtividade baseadas em níveis de incidência do complexo de enfezamento. Avaliando a incidência de enfezamento Toffanelli e Bedendo (2001) identificaram que para os híbridos mais suscetíveis, foram constatadas até 98% de redução na produção de grãos. Fica evidente a necessidade de se evitar a contaminação da lavoura com complexo do enfezamento, visto que esta característica é dominante sobre os impactos de produtividade e a sua ausência exclui a necessidade de controle de severidade/tolerância. Os híbridos comerciais NK 488 VIP3, NK 422 VIP3, 9602 20 VIP3 e SEMPRE 20A44 VIP3 que compõem o grupo que apresentou o maior nível de incidência são também os genótipos que apresentam os menores índices de severidade, com exceção de GNZ 7788 VIP3 que não apresentou incidência, este grupo apresentou também pouco dano em produtividade, sofrendo

reduções de 80 a 256 kg ha⁻¹, enquanto os materiais mais suscetíveis demonstraram danos de até 2664 kg ha⁻¹.

Considerando que todos os híbridos estavam expostos a mesma população de insetos vetores no mesmo momento, as diferenças entre os efeitos produtivos e de desenvolvimento deve-se a características específicas de cada híbrido podendo estar relacionadas a características genéticas que definem preferência ao inseto vetor e ainda devem ser estudadas para esclarecer o resultado metabólico específico de cada genótipo. Outra condição que impacta as diferenças de incidência do complexo de doenças como citado por Costa et al. (2018) é a época de semeadura, visto que quanto mais tardio o plantio maior será a probabilidade da população do vetor estarem contaminados com mollicutes ou espiroplasmas, assim como os primeiros plantios da safra recebem a primeira população migratória.

CONCLUSÕES

A redução da produtividade foi impactada principalmente pela incidência do complexo de enfezamento e os caracteres que mais contribuíram com a redução da produtividade foram comprimento de espigas, número de fileiras de grãos e peso de 100 grãos.

A ocorrência do complexo do enfezamento causou danos produtivos e reduziu os caracteres agronômicos avaliados.

Os híbridos com maior tolerância ao complexo do enfezamento foram GNZ 7788 VIP3 que não apresentou sintomas da doença, B 2702 PWU, FS 505 PWU, Sempre 10A40 VIP3, DKB 360 PRO3, FS 575 PWU, NK Defender VIP3 e MG 540 PWU que apresentaram baixa incidência da doença e maiores produtividade, os quais podem servir de fontes de resistência genética a essa doença.

REFERÊNCIAS

- Adapar (2021) Adapar e Embrapa orientam sobre o controle da cigarrinha do milho. Adapar. <https://www.adapar.pr.gov.br/Noticia/Adapar-e-Embrapa-orientam-sobre-o-controle-da-cigarrinha-do-milho>. Acessado em 11 de junho de 2021
- Borges MF, Resende MLV, Von Pinho RG (2001) Inoculação artificial de colmos de milho em diferentes idades e concentrações de inóculo e sua relação com a expressão da resistência a fusarium moniliforme. *Fitopatol bras* 26. <https://doi.org/10.1590/S0100-41582001000400004>
- Borghetti B, Filho IAP, Resende AV, Silva DD, Mendes SM, Silva AF (2017). Embrapa. Dez dicas para produção de milho. <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/169117/1/doc-216.pdf>. Acessado em 08 de fevereiro de 2021.
- Carlioni E, Carpane P, Paradell S, Laguna I, Giménez Pecci MP (2021). Presence of *dalbulus maidis* (hemiptera: cicadellidae) and of *spiroplasma kunkelii* in the temperate region of argentina, *Journal of Economic Entomology* 106. <https://doi.org/10.1603/EC12323>
- Casela CR, Ferreira AS, Almeida Pinto NFJ (2006). Embrapa. Doenças na cultura do milho. <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/490415/1/Circ83.pdf>. Acessado em 08 de fevereiro de 2021
- Climate-Data (2022). Climate-data.org Clima palotina. <https://pt.climate-data.org/america-do-sul/brasil/parana/palotina-43680/>. Acessado em 14 de dezembro de 2022
- Conab (2022). Conab. Série histórica das safras - milho. <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/serie-historica-das-safras/itemlist/category/910-Milho.html>. Acessado em 29 de novembro de 2022.
- Cota LV, Oliveira IR, Silva DD, Mendes SM, Costa RV, Souza IRP, Silva AF (2021). Embrapa. Manejo da cigarrinha e enfezamentos na cultura do milho. https://sistemafaep.org.br/wp-content/uploads/2021/02/Cartilha-cigarrinha-e-enfezamentos_WEB.pdf. Acessado em 09 junho de 2021
- Cota LV, Silva DD, Aguiar FME, Costa RV (2018). Embrapa. Resistência de genótipos de milho aos enfezamentos. <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/194219/1/circ-247.pdf>. Acessado em 07 de dezembro de 2022
- Cruz JC, Filho IAP, Alvarenga RC, Neto MMG, Viana JHM, Oliveira MF e Santana DP (2006). Manejo da cultura do milho. Embrapa CT 81. http://www.cnpms.embrapa.br/protilp/artigos/Circ_87.pdf. Acessado em 15 de fevereiro de 2023.
- Epagri (2021). Epagri divulga recomendações de manejo da cigarrinha-do-milho nas lavouras catarinenses. Epagri.

<https://www.epagri.sc.gov.br/index.php/2021/02/10/epagri-divulga-recomendacoes-de-manejo-da-cigarrinha-do-milho-nas-lavouras-catarinenses/>. Acessado em 22 de junho de 2021

Ferreira DF (2014). Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. *Ciênc. Agrotec* 38b p. 109-112. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542014000200001>.

Firrao G, Andersen M, Bertaccini A, Boudon E, Bové JM, Daire X, Davis RE, Fletcher J, Garnier M, Gibb KS, Gundersen-Rindal DE, Harrison N, Hiruki C, Kirpatrick BC, Jones P, Kuske CR, Lee IM, Liefting L, Marccone C, Namba S, Schneider B, Sears BB, Seemüller E, Smart CD, Streten C, Wang K (2004). 'Candidatus Phytoplasma', a taxon for the wall-less, non-helical prokaryotes that colonize plant phloem and insects. *International journal of systematic and evolutionary microbiology* 54. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02854-0>

Galvão SR, Sabato EO, Bedendo EO (2021). Occurrence and distribution of single or mixed infection of phytoplasma and spiroplasma causing corn stunting in Brazil. *Trop. plant pathol.* 46:152–155. <https://doi.org/10.1007/s40858-020-00381-6>

Gomes, J. B. V.; Wrege, M. S.; Holler, W. A.; Bognola, I. A. (2020). Características gerais dos municípios da Bacia do Paraná 3 e Palotina. Embrapa Florestas p. 11-16. <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/219125/1/1805-capitulo-1.pdf>. Acessado em: 15 de fevereiro de 2023.

Hidalgo H, Castañón G, Rodríguez F (1998). Resistencia al achaparramiento del maíz mediante infestaciones de *Dalbulus maidis* en maíz. *Agronomy Mesoamerican*, 119-124.

Jones TKL, Medina RF (2020). Corn stunt disease: an ideal insect–microbial–plant pathosystem for comprehensive studies of vector-borne plant diseases of corn. *Plants* 9. <https://doi.org/10.3390/plants9060747>

Jones TL, Diaz GE, Wayadande A, Vargas IEB (2021). Re-emergence of corn leafhopper (*Dalbulus maidis*; Hemiptera: Cicadellidae), an exotic and invasive pest of maize in south texas. *Southwestern Entomologist* 46. <https://doi.org/10.3958/059.046.0401>

Junqueira ACB, Bedendo IP, Pascholati SF (2011) Effect of phytoplasma infection on the activity of peroxidase, β -1,3 glucanase and chitinase in corn plants. *Summa phytopathol* 37. <https://doi.org/10.1590/S0100-54052011000400005>

Kassambara, A. and Mundt, F. (2020) Factoextra: Extract and Visualize the Results of Multivariate Data Analyses. R Package Version 1.0.7. <https://CRAN.R-project.org/package=factoextra>

Kolde R (2019). pheatmap: Pretty Heatmaps 2019. R package version 1.0.12. <https://CRAN.R-project.org/package=pheatmap>.

Lee IM, Davis RE, Gundersen-Rindal DE (2000). Phytoplasma: phytopathogenic mollicutes. *Annual Review of Microbiology* 54: 221-255. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.54.1.221>

Maechler M, Rousseeuw P, Struyf A, et al. cluster: Cluster Analysis Basics and Extensions. 2019. R package version 2.1.0. <https://svn.r-project.org/R-packages/trunk/cluster>.

Marín

Oleszczuk JD, Catalano MI, Dalaisón L, Di Rienzo JA, Giménez Pecci MdIP, Carpane P (2020). Characterization of components of resistance to Corn Stunt disease. PLoS ONE 15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0234454>

Oliveira E, Oliveira CM, Souza IRP, Magalhães PC e Cruz I (2002). Enfezamentos em milho: expressão de sintomas foliares, detecção dos mollicutes e interações com genótipos. Revista Brasileira de Milho e Sorgo 1 p.53-62. <https://doi.org/10.18512/1980-6477/rbms.v1n1p53-62>

Oliveira CM, Frizzas MR (2022). Eight decades of *dalbulus maidis* (delong & wolcott) (hemiptera, cicadellidae) in brazil: what we know and what we need to know. Neotrop Entomol 51:1–17. <https://doi.org/10.1007/s13744-021-00932-9>

Oliveira E de, Resende R de O, Giménez Pecci M de la P (2003) Incidência de viroses e enfezamentos e estimativa de perdas causadas por mollicutes em milho no Paraná. Pesq agropec bras 38. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2003000100003>

Reis EM, Casa RT, Bresolin ACR (2004). Manual de diagnose e controle de doenças do milho. 2. ed. Lages: Graphel, 2004. p144

Ribeiro LP, Canale MC (2021). Cigarrinha-do-milho e o complexo de enfezamentos em santa catarina: panorama, patossistema e estratégias de manejo. Agropecuária catarinense 34. <https://doi.org/10.52945/rac.v34i2.1144>

Sabato EO, Landau EC, Barros BA, Oliveira CM (2020). Differential transmission of phytoplasma and spiroplasma to maize caused by variation in the environmental temperature in Brazil. Eur J Plant Pathol 157:163–171. <https://doi.org/10.1007/s10658-020-01997-9>

Sologuren L (2015). Demanda mundial cresce e Brasil tem espaço para expandir produção. Visão Agrícola, 13, 8-11, 2015. https://www.esalq.usp.br/visaoagricola/sites/default/files/VA_13_Importancia-artigo1.pdf. Acessado em 22 de junho de 2021.

The jamovi project (2022). *Jamovi* (Version 2.3) [Computer Software]. Retrieved from <https://www.jamovi.org>

Toffanelli Cm, Bedendo Ip (2001) Efeito da inoculação do fitoplasma do enfezamento sobre o desenvolvimento e produção de híbridos de milho. Fitopatol bras 26. <https://doi.org/10.1590/S0100-41582001000400012>

Tozetti AD, Osuna JA, Banzatto DA (1995). Avaliação genotípica de progênies de meios-irmãos do composto dentado (*Zea mays* L.) para condições de safrinha. Pesquisa Agropecuária Brasileira. 30 p. 1411-1416. <https://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab/article/view/4441/1727>. Acessado em: 09 de fevereiro de 2023.

Vian AL, Santi AL, Amado TJC (2016) Variabilidade espacial da produtividade de milho irrigado e sua correlação com variáveis explicativas de planta. Cienc Rural 46. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20150539>

Vilanova ES (2021). Efeito do estágio de desenvolvimento da planta e densidade populacional do inseto vetor, *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae), sobre a transmissão e danos do fitoplasma do milho. USP-ESALQ. Dissertação de Mestrado. 83p. <https://doi.org/10.11606/D.11.2021.tde-26052021-105522>

WAQUIL J M (1997) Amostragem e abundância de cigarrinhas e danos de *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Homoptera: Cicadellidae) em plântulas de milho. Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, 26, 27-33. <https://doi.org/10.1590/S0301-80591997000100004>.

Whitcomb RF, Chen TA, Williamson DL, Liao C, Tully JG, Clark TB, Bové JM, Mouches C, Rose DL, Coan ME (1986). *Spiroplasma kunkelii* sp. nov.: characterization of the etiological agent of corn stunt disease. Int. J. of Systematic and Evol. Microbiol. 36. <https://doi.org/10.1099/00207713-36-2-170>

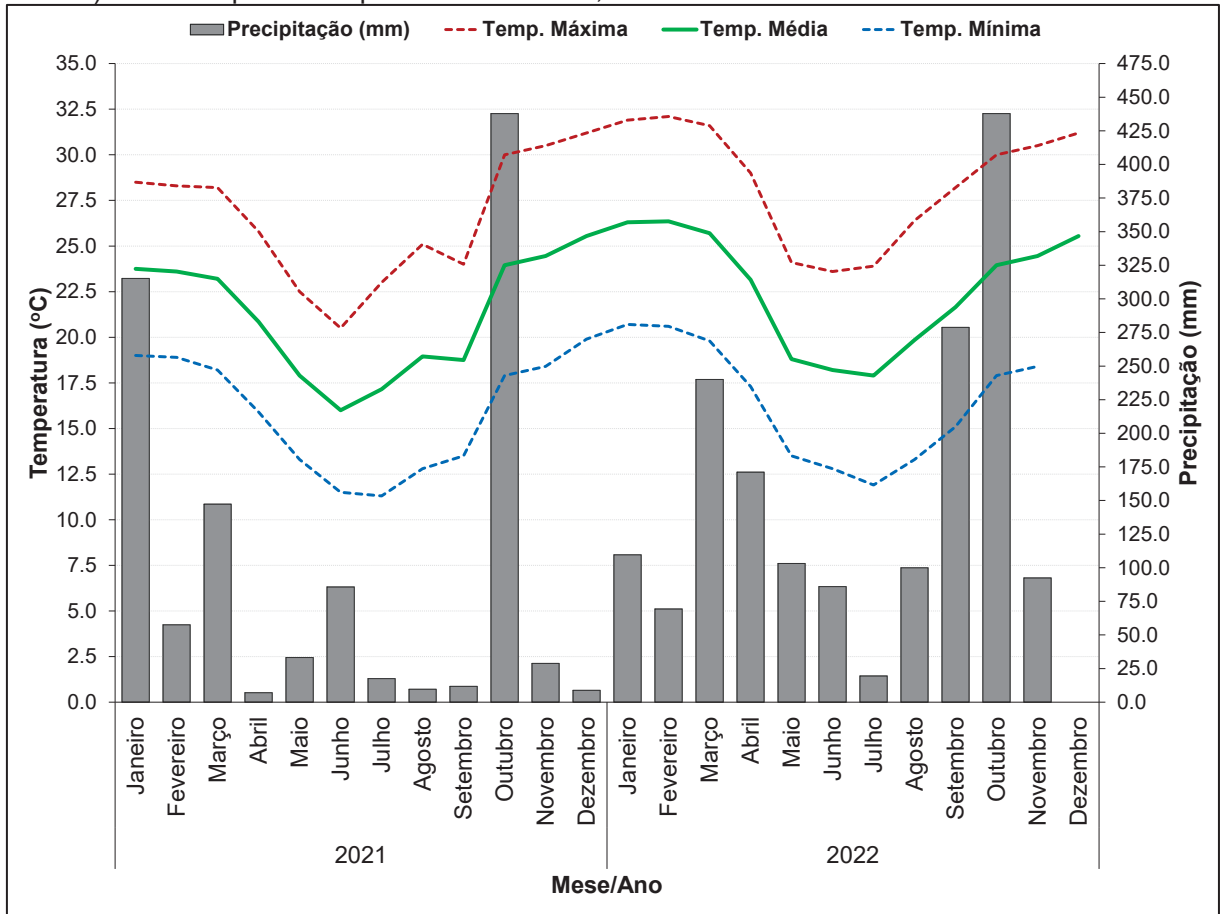
Wickham H, Averick M, Bryan J, et al. (2019) Welcome to the Tidyverse. J Open Source Softw 2019; 4:1686. <https://doi.org/10.21105/joss.01686>.

Wrege MS, Steinmetz S, Reisser JC, Almeida IR (2011). Atlas climático da Região Sul do Brasil: Estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Embrapa Florestas 332 p. <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1045852/atlas-climatico-da-regiao-sul-do-brasil-estados-do-parana-santa-catarina-e-rio-grande-do-sul>. Acessado em: 15 de fevereiro de 2023.

Zurita V, Yuri A, Anjos N e Waquil JM (2000) Aspectos biológicos de *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae) em híbridos de milho (*Zea mays* L.). An. Soc. Entomol. Bras. 29 p.347-352. <https://doi.org/10.1590/S0301-80592000000200017>

ANEXO 1 – INFORMAÇÕES CLIMÁTICAS

Gráfico 1. Precipitação média (mm) e temperatura do ar (Temp. máxima; Temp. média e Temp. mínima) durante o período experimental. Palotina, PR.



Fonte: IDR-Paraná (2023)

ANEXO 2 – CONTAGEM DE *DALBULUS MAIDIS* EM CARTUCHO DE MILHO

Tabela 5. Número de adultos e ninfas de *Dalbulus maidis* por planta em avaliações realizadas em plantas no estádio V6, nos genótipos de milho em parcelas de campo.

Palotina-PR				Entre Rios do Oeste-PR			
Genótipo	Ninfa	Adulto	Total	Genótipo	Ninfa	Adulto	Total
MG- 408 PWU	4	0	4	MG- 408 PWU	0	0	0
UFPR 123	4	0	4	UFPR 123	1	1	2
FS CBS 12B 082 PW	8	0	8	FS CBS 12B 082 PW	0	2	2
9801-20 VIP3	6	3	9	9801-20 VIP3	0	0	0
UFPR 120	2	0	2	UFPR 120	6	1	7
NK DEFENDER VIP3	8	3	11	NK DEFENDER VIP3	6	0	6
NK SUPREMO VIP3	0	0	0	NK SUPREMO VIP3	2	1	3
UFPR 141	3	3	6	UFPR 141	8	2	10
P- 3310 VYHR	4	0	4	P- 3310 VYHR	6	5	11
FS 700 PWU	4	0	4	FS 700 PWU	0	0	0
PRE 10A40 VIP3	1	3	4	PRE 10A40 VIP3	0	1	1
UFPR 119	6	0	6	UFPR 119	3	1	4
P- X30R520 VYHR	5	0	5	P- X30R520 VYHR	3	4	7
ROXO CASSOL	11	3	14	ROXO CASSOL	3	2	5
AG 8480 PRO3	5	2	7	AG 8480 PRO3	0	2	2
AG 9000 PRO3	4	0	4	AG 9000 PRO3	0	0	0
NK FERROZ VIP3	7	3	10	NK FERROZ VIP3	2	3	5
NK SUPREMO VIP3	2	1	3	NK SUPREMO VIP3	2	4	6
UFPR 26	3	1	4	UFPR 26	0	1	1
MG- 464 PWU	0	1	1	MG- 464 PWU	1	0	1
GNZ 7740 VIP3	4	0	4	GNZ 7740 VIP3	3	0	3
ROXO POP 2	0	1	1	ROXO POP 2	3	1	4
AG 9000 PRO3	15	0	15	AG 9000 PRO3	6	2	8
UFPR 108	5	1	6	UFPR 108	2	2	4
PRE 20A12 VIP3	2	0	2	PRE 20A12 VIP3	10	2	12
GNZ 7720 VIP3	8	0	8	GNZ 7720 VIP3	7	2	9
FS 575 PWU	0	0	0	FS 575 PWU	5	5	10
ROXO POP 1	0	1	1	ROXO POP 1	4	8	12
NK STATUS VIP3	13	1	14	NK STATUS VIP3	6	0	6
PRE - EXPERI-1 VIP3	4	1	5	PRE - EXPERI-1 VIP3	8	4	12
UFPR 149	2	3	5	UFPR 149	0	0	0
AS 1800 PRO3	0	0	0	AS 1800 PRO3	2	2	4
UFPR 144	6	2	8	UFPR 144	8	5	13
AG 9000 PRO3	1	2	3	AG 9000 PRO3	1	3	4
NK FERROZ VIP3	11	0	11	NK FERROZ VIP3	3	3	6
NK SUPREMO VIP3	7	0	7	NK SUPREMO VIP3	4	3	7
DKB 360 PRO3	0	4	4	DKB 360 PRO3	2	4	6
UFPR 76	7	2	9	UFPR 76	1	1	2
GNZ 7788 VIP3	5	0	5	GNZ 7788 VIP3	9	0	9
B- 2782 PWU	3	2	5	B- 2782 PWU	2	1	3
B- 2702 PWU	4	1	5	B- 2702 PWU	4	2	6

UFPR 57	3	0	3	UFPR 57	1	2	3
PRE- 20A38 VIP3	8	2	10	PRE- 20A38 VIP3	4	2	6
AS 1633 PRO3	4	2	6	AS 1633 PRO3	4	4	8
UFPR 101	1	1	2	UFPR 101	3	3	6
NK 488 VIP3	15	2	17	NK 488 VIP3	3	1	4
FS 670 PWU 13 37CM	6	0	6	FS 670 PWU 13 37CM	6	1	7
NK FERROZ VIP3	5	4	9	NK FERROZ VIP3	2	2	4
NK 422 VIP3	1	5	6	NK 422 VIP3	0	1	1
NK 555 VIP3	10	0	10	NK 555 VIP3	5	4	9
UFPR 19	2	1	3	UFPR 19	11	5	16
AG 9000 PRO3	1	2	3	AG 9000 PRO3	4	0	4
NK FERROZ VIP3	18	1	19	NK FERROZ VIP3	0	1	1
NK SUPREMO VIP3	11	2	13	NK SUPREMO VIP3	1	2	3
FS 505 PWU	13	2	15	FS 505 PWU	6	0	6
NK 467 VIP3	4	1	5	NK 467 VIP3	5	0	5
9602-20 VIP3	12	1	13	9602-20 VIP3	0	1	1
MG- 593 PWU	1	1	2	MG- 593 PWU	2	0	2
UFPR 73	9	0	9	UFPR 73	1	2	3
FS 564 PWU	1	0	1	FS 564 PWU	10	7	17
MG-540 PWU	4	1	5	MG-540 PWU	4	2	6
UFPR 145	7	1	8	UFPR 145	0	1	1
PRE 20A44 VIP3	8	1	9	PRE 20A44 VIP3	0	1	1
P- 3858 PWU	3	1	4	P- 3858 PWU	1	0	1
AS 1844 PRO3	5	2	7	AS 1844 PRO3	2	0	2
UFPR 102	2	2	4	UFPR 102	2	0	2
NK 520 VIP3	0	4	4	NK 520 VIP3	3	0	3
PRE EXPERI-2 VIP3	1	0	1	PRE EXPERI-2 VIP3	4	1	5
UFPR 31	1	1	2	UFPR 31	1	0	1
AG 9000 PRO3	2	4	6	AG 9000 PRO3	4	0	4
NK FERROZ VIP3	6	1	7	NK FERROZ VIP3	0	1	1
NK SUPREMO VIP3	8	2	10	NK SUPREMO VIP3	6	6	12

Fonte: O autor (2023)