

PATOGENICIDADE DE *Helminthosporium turcicum* Pass. EM MILHO
(*Zea mays* L.) E EM SORGO (*Sorghum vulgare* Pers.)

WALTER SÉRGIO PINTO PEREIRA

Orientador: Prof. Dr. Eric Balmer

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Fitopatologia.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Junho, 1976

À

meus pais

*que bastante contribuíram para
a formação deste seu filho*

MINHA HOMENAGEM

À

minha esposa

Angélica

DEDICO

A G R A D E C I M E N T O S

O autor expressa seus agradecimentos:

Ao Professor Dr. Eric Balmer, pela valiosa colaboração como orientador e pelas sugestões, durante o curso de Pós-Graduação e na elaboração deste trabalho;

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA); à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Departamento de Fitopatologia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", pelos recursos que ofereceram, tornando possível a participação no Curso de Pós-Graduação e a realização desta pesquisa;

Aos Professores Dr. Ferdinando Galli e Dr. Hiroshi Kimati, pelas sugestões e revisão dos originais;

Ao colega Professor Yodiro Masuda, pela versão para o inglês do resumo;

À Sementes Agrocere S. A., através do Eng^o-Agr^o Oswaldo Antonio Pinto Pereira e ao Departamento de Genética da E. S. A. "Luiz de Queiroz", através do Dr. João Rubens Zinsly, pelas sementes oferecidas;

Aos Funcionários Sr. Pedro da Silva e Sr. Samuel Martins, pelos valiosos auxílios prestados.

E a todos que direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho.

Í N D I C E

	Página
1 - RESUMO	1
2 - INTRODUÇÃO	3
3 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	6
3.1 - Introdução	6
3.2 - O Patógeno	7
3.3 - Reações de Plantas a <i>Helminthosporium turcicum</i>	9
3.4 - Fatores que Interferem nas Relações Patógeno-planta	10
4 - MATERIAIS E MÉTODOS	15
4.1 - Coleta e Preservação do Material Foliar Contendo o Patógeno e Fontes de Inóculo	15
4.2 - Isolamento e Obtenção das culturas do Patógeno	17
4.3 - Obtenção e Padronização do Inóculo	17
4.4 - Inoculação e Manutenção das Plantas Usadas em Testes de Patogenicidade	18
4.5 - Avaliação da Reação das Plantas ao Patógeno	19
4.6 - Esporulação "in vivo"	20
4.6.1 - Coleta e preparo do material e indução da esporulação	20
4.6.2 - Avaliação da esporulação	20
4.7 - Os Hospedeiros	21

	Página
4.8 - Experimentos Realizados	22
4.8.1 - Efeito da concentração de inóculo de <i>Helminthosporium turcicum</i> sobre reação de hospedeiros	22
4.8.2 - Reação de linhagens S ₂ de milho a <i>Helminthosporium turcicum</i> e esporulação do patógeno em diferentes tipos de lesão	23
4.8.3 - Reação de linhagens S ₃ de milho a <i>Helminthosporium turcicum</i>	25
4.8.4 - Inoculação cruzada para <i>Helminthosporium turcicum</i> de diferentes hospedeiros em milho e em sorgo e esporulação do patógeno em diferentes tipos de lesão	25
5 - RESULTADOS	28
5.1 - Efeito da Concentração de Inóculo de <i>Helminthosporium turcicum</i> sobre Reação de Hospedeiros	28
5.2 - Reação de Linhagens S ₂ de Milho a <i>Helminthosporium turcicum</i> e Esporulação do Patógeno em Diferentes Tipos de Lesão	30
5.3 - Reação de Linhagens S ₃ de Milho a <i>Helminthosporium turcicum</i>	44
5.4 - Inoculação Cruzada para <i>Helminthosporium turcicum</i> de Diferentes Hospedeiros em Milho e em Sorgo e Esporulação do Patógeno em Diferentes Tipos de Lesão	47

	Página
6 - DISCUSSÃO	54
7 - CONCLUSÕES	61
8 - SUMMARY	63
9 - LITERATURA CITADA	65

ÍNDICE DAS TABELAS

	Página
TABELA 1 - Fontes de inóculo de <i>Helminthosporium turcicum</i> usadas, hospedeiro de origem e local de coleta	16
TABELA 2 - Linhagens de milho diferenciais usadas, procedência e característica de campo quanto a resistência a <i>Helminthosporium turcicum</i>	21
TABELA 3 - Efeito da concentração de inóculo de <i>Helminthosporium turcicum</i> sobre reação de plantas. Número de plantas seguidos de suas reações	29
TABELA 4 - Frequência dos tipos de reação de linhagens S ₂ de milho a <i>Helminthosporium turcicum</i>	31
TABELA 5 - Frequência dos tipos de reação de linhagens S ₂ de milho a <i>Helminthosporium turcicum</i> e esporulação do patógeno em diferentes tipos de lesão	32
TABELA 6 - Frequência dos tipos de reação de linhagens S ₂ de milho a <i>Helminthosporium turcicum</i> e esporulação do patógeno em diferentes tipos de lesão	36
TABELA 7 - Frequência dos tipos de reação de linhagens S ₂ de milho a <i>Helminthosporium turcicum</i> e esporulação do patógeno em diferentes tipos de lesão	41
TABELA 8 - Reação de linhagens S ₃ de milho quando inoculadas com <i>Helminthosporium turcicum</i> . Frequência dos tipos de reação	45

TABELA 9 - Patogenicidade de diferentes isolados de <i>Helminthosporium turcicum</i> a duas linhagens de milho e a dois cultivares de sorgo	48
TABELA 10 - Esporulação de diferentes isolados de <i>Helminthosporium turcicum</i> , "in vivo", em lesões de plantas de milho e de sorgo	49
TABELA 11 - Patogenicidade de diferentes isolados de <i>Helminthosporium turcicum</i> a duas linhagens de milho a dois cultivares de sorgo	52
TABELA 12 - Esporulação de diferentes isolados de <i>Helminthosporium turcicum</i> , "in vivo", em lesões de plantas de milho e de sorgo	53

1 - RESUMO

O efeito da concentração de inóculo de *Helminthosporium turcicum* Pass. na reação de seedlings de milho foi testado para as concentrações de 2.500 , 5.000 e 10.000 conídios por ml, em condições de casa-de-vegetação. Algumas plantas da linhagem suscetível não mostraram lesões do tipo suscetível quando inoculadas com a concentração mais baixa de inóculo, enquanto que para a concentração mais elevada, algumas plantas da linhagem resistente mostraram lesões do tipo suscetível. Com a concentração de inóculo correspondente a 5.000 conídios por ml, as plantas apresentaram reações idênticas dentro de cada uma das linhagens padrão usada.

Para avaliar o grau de resistência de seedlings de linhagens de milho S₂ e S₃ , foi usado um isolado do patógeno obtido de mi-

lho. Os resultados mostraram que diferentes linhagens apresentaram diferentes graus de resistência, tendo sido também observado plantas com diferentes reações dentro de uma mesma linhagem.

Isolados de *Helminthosporium turcicum* de milho, sorgo e capim sudão foram inoculados em linhagens de milho resistente e suscetível e em dois cultivares de sorgo. Isolados de milho foram patogênicos somente a linhagem de milho suscetível. Isolados de capim sudão não foram patogênicos aos hospedeiros testados, ao passo que os isolados de sorgo não foram patogênicos as linhagens de milho, sendo somente um deles patogênico a um dos cultivares de sorgo.

Foi verificada uma relação entre a reação de plantas a *Helminthosporium turcicum* e a esporulação do patógeno "in vivo". Assim, nas lesões suscetíveis a esporulação iniciou em 24-48 horas, nas lesões resistentes em 72-96 horas, enquanto que nas lesões do tipo moderadamente resistente o início da esporulação foi influenciado pelo tamanho da lesão.

2 - INTRODUÇÃO

O milho, pela multiplicidade de suas aplicações, é um dos cereais mais cultivados no mundo, ocupando o Brasil lugar de destaque entre os grandes produtores mundiais.

A medida que se melhora a técnica de produção desta cultura, prejuízos devidos a doenças poderão ocorrer em consequência da quebra de equilíbrio biológico entre planta e patógeno nos programas de melhoramento.

Dentre as doenças mais importantes do milho, se destaca a mancha foliar causada por *Helminthosporium turcicum* Pass. Trabalhos anteriormente realizados revelaram a existência em plantas de milho de genes responsáveis pela resistência a este patógeno, sendo o mais importante deles o gene Ht .

Em programas de melhoramento de plantas, é importante o conhecimento da variabilidade do patógeno, uma vez que a ocorrência de uma nova raça acarretará a perda de muitos anos de trabalho. Este fato poderá ocorrer no caso de *Helminthosporium turcicum* e milho, pois nos Estados Unidos da América do Norte já se constatou uma nova raça capaz de quebrar a resistência de plantas com o gene Ht₁, até então utilizado.

O conhecimento de diferentes espécies de hospedeiros de um patógeno é muito importante, devido ao fato que estes podem funcionar como hospedeiros intermediários do patógeno, em épocas em que esteja ausente a planta hospedeira principal.

É importante o conhecimento de fontes de resistência a patógenos de plantas, uma vez que o uso desta é a forma mais racional e garantida de se controlar uma doença e sendo constatada esta resistência ela pode perfeitamente ser utilizada em programas de melhoramento, visando a incorporação deste caráter em plantas com características agrônomicas desejáveis.

O presente trabalho teve por objetivos:

- Conhecer o efeito da concentração de inóculo de *Helminthosporium turcicum* sobre a reação de linhagens de milho resistentes e suscetíveis, em condições de campo, quando testadas em condições de casa-de-vegetação.
- Avaliar o grau de resistência à *Helminthosporium turcicum*, em seedlings, para linhagens de milho S₂ e S₃ adaptadas às nossas condições.

- Verificar a gama de hospedeiros para isolados de *Helminthosporium turcicum* coletados de diferentes hospedeiros.
- Verificar a relação entre o tipo de reação induzida por *Helminthosporium turcicum* em plantas e a esporulação do patógeno "in vivo".

3 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 - INTRODUÇÃO

Entre os anos de 1939 a 1943 , nos Estados Unidos da América do Norte, a mancha foliar do milho, causada por *Helminthosporium turcicum* Pass., começou a prevalecer severamente em algumas localidades desde o leste indiano até a costa Atlântica (ULLSTRUP, 1970). Esta incidência foi devida, principalmente, à alta suscetibilidade da maioria , se não de todos, os híbridos cultivados (ELLIOTT e JENKINS, 1946).

A alta umidade, em certas regiões, como em New England, favoreceu o desenvolvimento da doença, tornando-a bastante danosa (DUNN e NAMM, 1970) , enquanto em outras regiões, como no sudoeste americano, a

doença ocorre anualmente, contrastando com a ocorrência esporádica nos estados do Norte (NELSON e SCHEIFELE, 1970).

As perdas de produção devidas a esta doença variam de 27,6 a 90,7% , dependendo da intensidade da infecção (CHENULU e HORA, 1962).

Em experimentos realizados nos Estados Unidos, sob condições de severa epidemia, híbridos resistentes produziram cerca de 70 bushels por acre a mais que os híbridos suscetíveis (ULLSTRUP e MILES, 1957).

No Brasil, o patógeno foi citado pela primeira vez, por VIEGAS (1946). Entre nós a doença é muito grave, não se conhecendo porém, os prejuízos que pode acarretar. No entanto sabe-se que, quanto mais tardio o aparecimento da doença, menor será o prejuízo por ela causado (GALLI *et alii* , 1968). Esta doença é muito frequente em nossas condições, encontrando-se relatos de sua ocorrência em quase todas as zonas de cultivo de milho.

3.2 - O PATÓGENO

O agente patogênico da doença aqui pesquisada foi primeiramente denominado *Helminthosporium turcicum* Pass. (LUTTRELL, 1957). Contudo, de acordo com diferentes pontos de vista taxonômicos, foi sucessivamente chamado de *Helminthosporium hiconspicuum* Cooke & Ellis, 1878 ; *Bipolaris turcicum* (Pass.) Shoemaker, 1959 ; *Drechslera turcica* (Pass.) Subramanian & Jain, 1966 e *Exserohilum turcicum* (Pass.) Leonard & Suggs, 1974 (LEONARD e SUGGS, 1974).

Segundo LUTTRELL (1957) , a fase perfeita deste fungo pertence ao gênero *Metasphaeria* ou *Leptosphaeria* , que são considerados sinônimos. LUTTRELL (1958) mudou a classificação para *Trichometasphaeria turcica* . Mais recentemente, novas posições na classificação foram sendo atribuídas para a fase perfeita do patógeno, tendo-se assim: *Keisslerilla turcica* (Luttrell) von Arx, 1970 e *Setosphaeria turcica* (Luttrell) Leonard & Suggs, 1974 (LEONARD e SUGGS, 1974).

Com relação a especialização fisiológica de *Helminthosporium turcicum*, vários trabalhos têm sido conduzidos, demonstrando a evidência de raças fisiológicas. LEFEBVRE e SHERWIN (1945) ; BROWMIK e PRASADA (1970) e SURTLEFF *et alii* (1973) , para distinguir raças fisiológicas basearam-se em reações de diferentes espécies hospedeiras, principalmente milho, sorgo, sudan grass, johnson grass e teosinte. ROBLES (1949) e ROBERT (1960) evidenciaram raças fisiológicas do patógeno , com o uso de diferentes variedades de uma mesma espécie, no caso o milho.

Segundo STAKMAN e HARRAR (1957), raça fisiológica é um biótipo ou um conjunto de biótipos que podem ser separados com razoável certeza por suas características fisiológicas.

Em princípios deste século Erikson instituiu o conceito de "*forma specialis*" como sendo uma sub-divisão da espécie do patógeno, definida por critérios de diferenças em ser patogênico à hospedeiros de diferentes espécies (GALLI *et alii*, 1968).

BERGQUIST e MASIAS (1974) dividem a espécie *Trichometasphaeria turcica* em duas *formas specialis* , *Trichometasphaeria turcica* f. sp. *zeae* e *Trichometasphaeria turcica* f. sp. *sorghii* , Os autores relatam a ocorrência de uma segunda raça de *Trichometasphaeria turcica* f. sp. *sorghii*, antes desconhecida, a qual chamaram de raça 2 , sendo que es

ta é capaz de atacar milho portador do gene Ht_1 . Quanto a *Trichomesphaeria turcica* f. sp. *sorghii*, as duas raças 1 e 2 são diferenciadas em milho diferencial.

HAMID e ARAGAKI (1975) relataram a ocorrência de *Setosphaeria turcica* f. sp. *complexa* , atribuída a isolados do patógeno que têm habilidade em atacar ambas as espécies, milho e sorgo.

Quanto ao relacionamento genético entre diferentes isolados de *Helminthosporium turcicum* , cruzamentos "in vitro" de isolados oriundos de diferentes espécies de hospedeiro tiveram diferentes capacidades em atacar os vários hospedeiros. (RODRIGUEZ e ULLSTRUP, 1962).

3.3 - REAÇÕES DE PLANTAS A *Helminthosporium turcicum*

Com relação à ocorrência de genes de resistência a *Helminthosporium turcicum* em plantas de milho, vários levantamentos foram realizados. Desta forma JENKINS *et alii* (1952), quando testaram sete grupos de progênies em 1949 e cinco grupos em 1950 , chegaram a conclusão que muitos genes eram responsáveis por esta resistência, porém o efeito de alguns era mais potente que o de outros. Por outro lado, VANSCHAICK e LEROUX (1959) testaram dez linhagens de milho ao ataque deste patógeno, concluindo que em alguns casos a resistência era poligênica enquanto em outras era governada por apenas um ou poucos genes.

Segundo VAN DE PLANK (1968) , dois tipos de resistência são evidenciados a patógenos de plantas, sendo eles, resistência vertical e resistência horizontal.

Em seedlings de milho, no estágio de quatro folhas inoculados com suspensão de esporos de *Helminthosporium turcicum*, as lesões em material resistente tinham aproximadamente 1/4 do tamanho das lesões de material suscetível, não se observando diferenças quanto ao número de lesões (HILU e HOOKER, 1963).

A comparação de sintomas entre linhagens com resistência horizontal e vertical foi realizada por HILU e HOOKER (1965). A resistência poligênica ou horizontal é expressa por baixo número de lesões de pequeno tamanho e com esporulação suportável pelo hospedeiro. A resistência monogênica é expressa por lesões cloróticas com margens amareladas ou marrom claras. O ressecamento das folhas não ocorre na resistência multigênica e também a esporulação não ocorre, ou é muito reduzida. A estas observações ULLSTRUP (1970), acrescenta que a resistência horizontal se expressa por reduzido número de lesões, sem diminuição marcada no seu tamanho.

A frequência da ocorrência de genes de virulência ao gene Ht, segundo HOOKER *et alii* (1965) é baixa, uma vez que, realizando 166 isolamentos de diferentes regiões geográficas e testando-os sobre milho com resistência monogênica, carregando o gene Ht, a reação típica encontrada foi lesões do tipo clorótico.

3.4 - FATORES QUE INTERFEREM NAS RELAÇÕES PLANTA-PATÓGENO

Vários fatores interferem marcadamente na variação da patogenicidade de isolados de *Helminthosporium turcicum*.

Com relação a influência da manutenção do fungo em meio de cultura, ROBERT e JENKINS (1949) afirmam haver grande variação na virulência, sendo a patogenicidade sujeita a mudanças de um ano para o outro.

Trabalhando com quatro isolados monoconidiais de *Helminthosporium turcicum*, HILU (1964) apurou o efeito de transferências seriadas em meio de cultura por dois processos, através de blocos de agar e suspensão de esporos, sobre a variabilidade e patogenicidade do fungo. Concluiu que o tipo de crescimento de cultura usado para inóculo influenciou na manifestação dos sintomas.

O isolamento do patógeno de um dado hospedeiro faz com que este isolado tenda a ser mais patogênico sobre o mesmo. Isto confirma a indicação que a variação da reação do patógeno para diferentes plantas hospedeiras, origina-se da influência genética do fungo em resposta a diferenças genéticas do hospedeiro, conforme indicam os trabalhos de ROBERT e SPRANGUE (1960) e RODRIGUEZ e ULLSTRUP (1962).

Com relação a diferença de patogenicidade entre diferentes isolados, ANDREW *et alii* (1964) concluíram que o intervalo de tempo entre a inoculação e a avaliação do nível de doença foi variável para os diferentes isolados testados.

As condições de armazenamento das folhas com sintomas, pode influir na patogenicidade de *Helminthosporium turcicum*, assim HOOPE e ARNY (1966) concluíram que a virulência decresce quando a temperatura de armazenamento está acima de 10°C, sendo que em temperaturas mais baixas o inóculo pode ser armazenado por 25 meses sem sofrer danos. A umidade de armazenamento foi mais drástica nos efeitos deletérios, uma vez que, quando o material era umidecido até perto da saturação, antes

de ser armazenado, tornava-se totalmente impotente a questão de dias quando deixado à temperatura ambiente.

Com relação à natureza genética da patogenicidade, isola dos patogênicos a somente uma espécie de milho, sorgo e sudan grass, são homocarions, ao passo que, isolados patogênicos a ambos, milho e sorgo são heterocarions, segundo MASIAS e BERGQUIST (1974). É sugerida uma distinção fisiológica dos genes que condicionam patogenicidade para cada espécie de hospedeiro, sendo que no heterocarion os genes que condicionam patogenicidade para milho e sorgo funcionam de modo aditivo. (MASIAS e BERGQUIST, 1974).

Conforme HILU (1964), variações na expressão de sintomas podem ser atribuídas às diferenças de concentração de esporos na suspensão de inóculo. Assim as plantas inoculadas com suspensão de alta concentração de esporos apresentavam "flecks" e depois manchas características de suscetibilidade, ao passo que as inoculadas com baixa concentração de esporos conservavam as lesões cloróticas do tipo "flecks".

Vários fatores ambientais tem se mostrado bastante influente nos processos de desenvolvimento da doença e sobrevivência de *Helminthosporium turcicum*, sendo os mais evidentes a temperatura e a umidade.

O efeito da temperatura e umidade na germinação dos conídios e crescimento do patógeno, foi observado por MISRA e SINGH (1963). Assim, a germinação dos esporos ocorre melhor nas temperaturas entre 20 e 30°C, sendo que "in vitro", à temperatura de 25 a 35°C produz ótimo crescimento, enquanto temperaturas superiores a 38°C inibem

completamente o mesmo. A umidade relativa é muito importante nos processos iniciais da relação patógeno-hospedeiro e no desenvolvimento da doença ; assim a 90,2% de umidade relativa os esporos germinam em 36 horas e a 100% em apenas duas horas.

Com relação aos efeitos da temperatura e umidade no desenvolvimento da doença, pode-se afirmar segundo ANDREW *et alii* (1964) que temperaturas moderadas acompanhadas por picos quentes e alta umidade, favorecem o processo, enquanto que o calor e tempo seco inibem-no. O nível de temperatura ótimo pode ser considerado entre 18 e 27°C (SHURTLEFF *et alii*, 1973).

A temperatura tem influência sobre a incubação e estabelecimento da doença. De acordo com NATSVLISHVILI e MACHAVARIANI (1969), o período de incubação para este patógeno é de três dias quando a temperatura se mantém entre 13,3 e 14,6°C , ao passo que à temperaturas entre 22,7 e 25,9°C , o tempo de incubação necessário para o desenvolvimento da doença é de apenas dois dias. Foi observado também que a temperaturas entre 13,3 e 15,8°C não ocorre esporulação.

ANDREW *et alii* (1964), estudando os efeitos causados ao desenvolvimento das lesões de *Helminthosporium turcicum* em plantas de milho pela temperatura, luz, concentração do inóculo, estágio da planta, intervalo entre inoculação e avaliação e fonte de inóculo, concluíram que a doença se desenvolve mais rapidamente com o uso de altas concentrações de inóculo, altas temperaturas e com plantas no estágio de três folhas.

A luminosidade também exerce influência no processo desta doença. Assim, seedlings de milho quando inoculados e deixados a do-

ze horas de luz diárias , mostravam-se mais suscetíveis à doença, que aqueles deixados sob dezesseis horas diárias de luz (ANDREW *et alii* , 1964).

Os fatores que mais diretamente influem na sobrevivência e longevidade do patógeno são temperatura e umidade; desta forma, conclui-se que propágulos do patógeno, não suportam temperaturas e umidades altas durante três ou quatro meses seguidos, sendo que a temperaturas baixas e baixas umidades relativas, chegam a sobreviver até por doze anos (ROBERT, 1964).

Variações periódicas na reação à doenças constituem um grande problema no desenvolvimento de linhas resistentes. JENKINS *et alii* (1956) , testando 58 linhagens para resistência a *Helminthosporium turcicum* em seis épocas diferentes, concluíram que as diferenças entre as linhagens testadas e entre as épocas foram altamente significativas, ao passo que a interação linhagens x épocas, teve baixa significância e foi de menor importância.

4 - MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 - COLETA E PRESERVAÇÃO DO MATERIAL FOLIAR CONTENDO O PATÓGENO E FONTES DE INÓCULO

Todo o material coletado para o desenvolvimento dos trabalhos, constava de folhas contendo lesões características de suscetibilidade a *Helminthosporium turcicum* Pass. O material assim obtido foi herbarizado entre folhas de papel, até secamento dos tecidos, os quais em seguida foram mantidos em sacos de papel, em condições ambientes, sendo usados como fonte de inóculo por ocasião dos experimentos.

As fontes de inóculo usadas no desenvolvimento dos trabalhos constam na Tabela 1 .

TABELA 1 - Fontes de inóculo de *Helminthosporium turcicum* usadas, hospedeiro de origem e local de coleta

Número da Fonte de Inóculo	Hospedeiro Origem	Localidade
5	Capim Sudão	Campinas, SP
9	Milho	Jacarézinho, PR
11	Sorgo	Piracicaba, SP
24	Milho	Piracicaba, SP
26	Milho	Ipuã, SP
35	Sorgo	Jacarézinho, PR
36	Capim Sudão	Jacarézinho, PR
44	Milho	Campinas, SP
51	Sorgo	Sete Lagoas, MG
52	Milho	Sete Lagoas, MG
53	Milho	Inhumas, GO
54	Milho	Várzea do Poço, BA

4.2 - ISOLAMENTO E OBTENÇÃO DAS CULTURAS DO PATÓGENO

Para isolamento do patógeno foi utilizada a seguinte técnica: segmentos de folha contendo lesões, foram desinfectadas superficialmente em solução aquosa de Q-Boa, contendo 5% de cloro ativo, diluída na proporção de uma parte do produto para três partes de água, durante um a dois minutos e logo após colocadas em câmara úmida, conseguida através do uso de placas de Petri esterilizadas, contendo papel de filtro umedecido.

Após 24 a 48 horas, quando a esporulação era abundante, com o auxílio de uma agulha de laboratório, os conídios foram transferidos assepticamente para placas de Petri contendo meio de lactose - caseína hidrolizada (MALCA e ULLSTRUP, 1962), com a seguinte composição:

Lactose	37,5 g
Caseína Hidrolizada Enzimática	3,0 g
KH_2PO_4	1,0 g
MgSO_4	0,5 g
Solução de micronutrientes	2,0 ml
Agar	15,0 g
Água	1.000 ml

4.3 - OBTENÇÃO E PADRONIZAÇÃO DO INÓCULO

Conídios foram transferidos para placas de Petri contendo meio LCH. As placas foram mantidas por oito a dez dias a temperatura de 25 a 28°C, em ausência de luz.

O preparo da suspensão de esporos era realizado, fazendo-se suspender os esporos em água destilada com o auxílio de um pincel de pelos de camelo. Após a suspensão, fazia-se a passagem da mesma por uma camada dupla de gaze, a fim de retirar massas de micélio e restos de meio de cultura.

A padronização do inóculo era feita através da contagem da concentração de esporos com o uso de hemocitometro, após a qual se calibrava por diluição à concentração desejada.

A suspensão assim conseguida, era acrescentado o espalhante TWEEN 80, na proporção de uma gota para cada 100 ml da suspensão.

4.4 - INOCULAÇÃO E MANUTENÇÃO DAS PLANTAS USADAS EM TESTES DE PATOGENICIDADE

Plantas de milho e de sorgo, em número mínimo de cinco por vaso de alumínio com 14,5 cm de diâmetro, contendo solo previamente esterilizado, no estágio de desenvolvimento correspondente a quatro ou cinco folhas verdadeiras, foram inoculadas por pulverização com uma suspensão de conídios com concentração conhecida e mantidas em câmara úmida por vinte horas. Após este período as plantas foram transferidas para condições de ambiente de casa-de-vegetação, sendo irrigadas sempre que necessário.

Os tratamentos usados como testemunhas foram pulverizados com água destilada, sofrendo o mesmo processo que os demais.

4.5 - AVALIAÇÃO DA REAÇÃO DAS PLANTAS AO PATÓGENO

A avaliação da reação das plantas ao patógeno foi realizada aos quatorze dias após a inoculação, fazendo-se notar o tipo de reação das plantas, sendo usada a seguinte escala:

- R - Resistente: lesões cloróticas do tipo "flecks" e lesões necróticas com margem pigmentada.
- S - Suscetível: lesões grandes, alongadas, necróticas, com bordos descoloridos, apresentando murchamento das pontas das folhas.
- SH - Moderadamente resistente: lesões do tipo suscetível, porém com tamanho menor e em menor número, além de não apresentar murchamento na parte distal da folha.

A patogenicidade de diferentes isolados num mesmo hospedeiro foi medida mediante a severidade dos sintomas produzidos, de acordo com a seguinte graduação:

- (-) - Isolado não patogênico, produzindo lesões do tipo R .
- (+) - Isolado moderadamente patogênico, produzindo lesões do tipo S e severidade moderada da doença.
- (++) - Isolado altamente patogênico, produzindo lesões do tipo S , com sintomas severos da doença.

4.6 - ESPORULAÇÃO "in vivo"

4.6.1 - Coleta e preparo do material e indução da esporulação

Secções de folhas com 4 a 5 cm, contendo lesões provenientes dos testes de patogenicidade, foram coletadas na casa-de-vegetação e depois transportadas em sacos de polietileno para o laboratório.

Os segmentos de folhas, desinfectados superficialmente com uma solução de Q-Boa contendo 5% de cloro ativo, diluída em água na concentração de 25% do produto, foram transferidas para placas de petri esterilizadas, contendo papel de filtro umedecido, em número de dois segmentos por placa, e deixados em condições ambientais de laboratório.

4.6.2 - Avaliação da esporulação

Em intervalos de 24 horas a partir da colocação dos tecidos em câmara úmida, foram feitas cinco observações, sendo elas correspondentes aos períodos de 24 , 48 , 72 , 96 e 120 horas.

A avaliação quanto a intensidade de esporulação seguiu o seguinte código:

- (-) - Ausência de conidióforos e conídios.
- (+) - Presença de conidióforos na lesão.
- (++) - Início de esporulação na lesão.
- (+++)- Esporulação abundante na lesão.
- (++++)- Esporulação nos tecidos adjacentes às lesões.

No Experimento VI as lesões SH e SH^a foram observadas no mesmo segmento de folha.

4.7 - OS HOSPEDEIROS

Durante o desenvolvimento do trabalho, foram utilizadas como hospedeiro plantas de milho e sorgo.

As linhagens de milho utilizadas como padrão de suscetibilidade e resistência são apresentadas na Tabela 2 .

TABELA 2 - Linhagens de milho diferenciais usadas; procedência e característica de campo quanto à resistência a *Helminthosporium turcicum*.

Número da Linhagem	Procedência	Característica de Campo
23	Sementes Agrocere S.A.	Suscetível
1.424	Sementes Agrocere S.A.	Moderadamente resistente
1.783	Sementes Agrocere S.A.	Resistente

As demais linhagens de milho testadas eram procedentes do Instituto de Genética da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", sendo elas:

Estágio S₂ de auto-fecundação

Composto A - 3022-2 ; 2888 ; 2730 ; 8142-1 ; 2588-2 ; 2401 ;
2253 ; 2067-2 ; 1848 ; 1718 ; 1606 ; 1495 ;
822 ; 1166 ; 209 ; 1411 ; 1285 ; 495 ; 1201-1 ;
1788 ; 1778 ; 2070-1 ; 1625 ; 1409 ; 2697 .

Composto B - 615-2 ; 717 ; 489-2 ; 884-1 ; 1033-1 ; 653 ;
642-2 ; 934 ; 682-1 ; 544 ; 635-1 ; 753 ;
1109 ; 993-2 ; 10 ; 58-1 ; 119 ; 179-2 ;
247 ; 316 ; 447 ; 378-1 ; 515 ; 586 ;
751-2 ; 659-2 .

Estágio S₃ de autofecundação:

Composto A - 86-1 F₁ ; 3022-2 F₁ ; 21-1 F₁ .

Composto B - 929 F₁ ; 313 F₁ ; 483 F₁ ; 64 F₁ ; 453 F₁ ;
688 F₁ ; 933-2 F₁ ; 378-1 F₁ ; 10 F₁ ; 316 F₁ .

Os cultivares de sorgo usados foram:

IAC-SART - Sorgo forrageiro

TE-Y 101 - Sorgo granífero.

4.8 - EXPERIMENTOS REALIZADOS

4.8.1 - Efeito da concentração de inóculo de *Helminthosporium turcicum* sobre reação de hospedeiros. Experimento I

Neste experimento foi usado como inóculo, um isolado da fonte de inóculo número 9 .

As concentrações de inóculo testadas foram: 2.500 ; 5.000 e 10.000 conídios por ml.

Os hospedeiros usados foram as linhagens 23 e 1783 de milho, tidas respectivamente como suscetível e resistente em condições de campo.

A condução dos experimentos foi feita usando quatro repetições por tratamento, sendo cada repetição composta de no mínimo cinco plantas. Os tratamentos foram distribuídos inteiramente ao acaso.

4.8.2 - Reação de linhagens S₂ de milho a *Helminthosporium turcicum* e esporulação do patógeno em diferentes tipos de lesão. Experimentos II, III, IV e V

Em cada um dos experimentos foi avaliada a reação de 26 linhagens de milho no estágio S₂ de autofecundação.

O inóculo usado foi um isolado da fonte de inóculo 9, na concentração de 5.000 conídios por ml.

Os experimentos foram conduzidos, usando-se duas repetições por tratamento, sendo cada uma delas composta, no mínimo de cinco plantas. Os tratamentos foram distribuídos, na banca da casa-de-vegetação, inteiramente ao acaso.

As linhagens de milho usadas como padrão, foram as de número 23, 1424 e 1783.

Para verificar a esporulação do patógeno em diferentes tipos de lesão, foram usadas duas placas de petri, contendo dois ou três segmentos de folha, para cada linhagem e cada tipo de lesão.

Experimento II

Este experimento foi conduzido durante o mês de abril de 1975 , quando a temperatura da casa-de-vegetação esteve entre 20 e 35°C .

Não foi verificada neste experimento, a esporulação do patógeno em diferentes tipos de lesão.

Experimento III

Este experimento foi realizado durante o mês de agosto de 1975 , época em que a temperatura da casa-de-vegetação sofreu picos elevados, superiores a 35°C .

As linhagens S₂ testadas foram as mesmas do experimento II, com exceção da 1117 do composto B , que foi substituída pela 884-1.

No teste de esporulação do patógeno, cada tipo de reação considerado, foi observado em diferentes segmentos de folha.

Experimento IV

Este experimento foi conduzido durante o mês de setembro de 1975 , quando a temperatura da casa-de-vegetação, mantave-se em níveis satisfatórios, sem picos elevados.

No teste de esporulação, as lesões SH e SH^a foram observadas no mesmo segmento de folha.

Experimento V

Este experimento foi realizado nos meses de janeiro e fevereiro de 1976 .

No teste de esporulação foram usados apenas alguns tratamentos do teste de patogenicidade, sendo que os diferentes tipos de reação, foram observados em segmentos de folha distintos.

4.8.3 - Reação de linhagens S_3 de milho a *Helminthosporium turcicum* . Experimento VI

Neste experimento foram avaliadas treze linhagens de milho no estágio S_3 de autofecundação.

Como padrões foram usadas as linhagens 23 e 1783 inoculadas e não inoculadas.

O inóculo do patógeno usado foi um isolado da fonte de inóculo 9 , o qual foi usado na concentração de 5.000 conídios por ml.

Neste experimento foram usadas duas repetições por tratamento, sendo que cada repetição era composta de cinco plantas. Estes tratamentos tiveram distribuição totalmente casualizada.

4.8.4 - Inoculação cruzada para *Helminthosporium turcicum* diferentes hospedeiros em milho e em sorgo e esporulação do patógeno em diferentes tipos de lesão.

Experimento VII

Neste experimento foi realizada a inoculação cruzada para diferentes isolados de *Helminthosporium turcicum* sobre milho e sorgo.

Reação dos hospedeiros

O inóculo do patógeno usado neste experimento foram isolados das fontes de inóculo números: 5 , 9 , 11 , 24 , 26 , 36 , 44 , 51 , 52 , 53 , 54 , sendo estes inoculados na concentração de 5.000 conídios por ml.

Os hospedeiros testados foram as linhagens de milho 23 e 1783 , assim como os cultivares de sorgo IAC-SART e TE-Y 101.

Neste ensaio foram usadas duas repetições por tratamento, sendo cada repetição composta de no mínimo cinco plantas. Os tratamentos foram distribuídos inteiramente ao acaso.

Esporulação

Para verificar a esporulação do patógeno em diferentes tipos de lesão foram utilizadas duas placas de petri, contendo dois ou três segmentos de folha, para cada tratamento.

Experimento VII

Neste experimento foi realizada a inoculação cruzada para diferentes isolados de *Helminthosporium turcicum* sobre milho e sorgo.

Reação dos hospedeiros

Neste experimento foram repetidos alguns pontos considerados importantes no experimento VII , sendo usados como inóculo do patógeno isolados das fontes de inóculo números: 9 , 11 , 26 , 52 , 53 e 54 , inoculados na concentração de 5.000 conídios por ml.

Os hospedeiros testados e a condução do experimento foi a mesma do experimento VII .

Esporulação

Como consta no experimento VII.

5 - RESULTADOS

5.1 - EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE INÓCULO DE *Helminthosporium turcicum* SOBRE REAÇÃO DE HOSPEDEIROS

Experimento I

Os dados obtidos neste experimento são apresentados na Tabela 3 .

Foi observado que a concentração do inóculo influi sobre a reação das plantas. Na concentração de 2.500 conídios por ml, nem todas as plantas da linhagem 23 mostraram reação do tipo suscetível, ao passo que na concentração de 10.000 conídios por ml, algumas plantas da linhagem 1783 mostraram lesões do tipo suscetível.

TABELA 3 - Efeito da concentração de inóculo de *Helminthosporium turcicum* sobre reação de plantas. Número de plantas seguido de suas reações

Hospedeiro	Repetição	Concentração de Inóculo (Con./ml)		
		2.500	5.000	10.000
23	1. ^a	5 S ^(a)	5 S	5 S
	2. ^a	5 S	5 S	5 S
	3. ^a	5 R ^(b)	5 S	5 S
	4. ^a	2 S/3 R	5 S	5 S
1783	1. ^a	5 R	5 R	5 R
	2. ^a	5 R	5 R	5 R
	3. ^a	5 R	5 R	4 R/1 S
	4. ^a	5 R	5 R	4 R/1 S

(a) S - Suscetível

(b) R - Resistente

5.2 - REAÇÃO DE LINHAGENS S₂ DE MILHO A *Helminthosporium turcicum* E ESPORULAÇÃO DO PATÓGENO EM DIFERENTES TIPOS DE LESÃO

Experimento II

Os dados obtidos neste experimento são apresentados na Table 4 .

Foi observado diferentes comportamentos entre as linhagens S₂ . Desta forma algumas linhagens S₂ se mostravam totalmente resistentes, outras totalmente suscetíveis, ao passo que as demais apresentavam mais que um tipo de reação. Os resultados mostraram também que, dentro de uma mesma linhagem S₂ , pode ocorrer plantas com diferentes reações. Os dados revelaram ainda que dentre as linhagens S₂ houve uma grande ocorrência de casos de resistência. Quanto ao comportamento das linhagens padrão foi notado que o isolado do patógeno usado não causou lesão do tipo suscetível na linhagem 1424 , sendo que o fenômeno inverso ocorreu com a linhagem 23 .

TABELA 4 - Frequência dos tipos de reação das linhagens S₂ de milho a *Helminthosporium turcicum*. Experimento II

Linhagem	Tipos de reação ao patógeno	Porcentagem de frequência de plantas com os tipos de reação		
		R	SH	S
Composto A				
1166	R	100	-	-
209	S	-	-	100
1411	R	100	-	-
1285	R	100	-	-
495	R - SH	50	50	-
1201-1	R - S	80	-	20
1788	SH	-	100	-
1778	SH	-	100	-
2070-1	R - SH - S	20	50	30
1625	SH - S	-	80	20
1409	R	100	-	-
1114 (a)	-	-	-	-
2697	R - S	86	-	14
Composto B				
615-2	S	-	-	100
717	S	-	-	100
489-2	R - S	80	-	20
1117	R	100	-	-
1033-1	SH - S	-	70	30
653 (a)	-	-	-	-
642-2	R	100	-	-
934	R - S	25	-	75
468-1	S	-	-	100
544	R - S	40	-	60
635-1	SH	-	100	-
753	SH	-	100	-
1109	SH	-	100	-
Padrão				
23 I.	S	-	-	100
23 N.I.	-		Sem Sintomas	
1424 I.	R	100	-	-
1424 N.I.	-		Sem Sintomas	

(a) Tratamento perdido S Suscetível
R Resistente I. Inoculados
SH Moderadamente resistente N.I. Não Inoculados

Experimento III

Os dados obtidos neste experimento são apresentados na Tabela 5 .

TABELA 5 - Frequência dos tipos de reação de linhagens S₂ de milho a *Helminthosporium turcicum* e esporulação do patógeno em diferentes tipos de lesões. Experimento III

Linhagem	Porcentagem de plantas com tipos de reação			Tipos de Lesão	Esporulação em lesões					
	R	SH	S		Períodos de observação (h)					
					24	48	72	96	120	
Composto A										
1166	-	-	100	S	-	+++	++++	++++	++++	
209	-	-	100	S	+	++	+++	++++	++++	
1411	100	-	-	R	-	-	++++	++++	++++	
1285	-	20	80	SH	+	++++	++++	++++	++++	
				S	-	++	++++	++++	++++	
495	-	63	37	SH	-	-	+	+++	++++	
				S	++	+++	++++	++++	++++	
1201-1	-	20	80	SH	-	+ ^a	++ ^a	+++ ^a	++++	
				S	-	+++	++++	++++	++++	
1788	-	40	60	SH	-	+ ^a	++ ^a	++++	++++	
				S	+	++++	++++	++++	++++	
1778	-	-	100	S	++	+++	++++	++++	++++	
2070-1	-	60	40	SH	-	-	-	++	++++	
				S	-	++	++++	++++	++++	
1625	-	-	100	S	++	++++	++++	++++	++++	
1409	-	20	80	S	-	+++	++++	++++	++++	

Continua ...

TABELA 5 - Continuação

Linhagem	Porcentagem de plantas com tipos de reação			Tipos de Lesão	Esporulação em lesões					
	R	SH	S		Períodos de observação (h)					
					24	48	72	96	120	
Composto A										
1114	-	37	63	SH	+ ^a	+++ ^a	++++	++++	++++	
				S	++	++++	++++	++++	++++	
2697	-	-	100	S	++	+++	++++	++++	++++	
Composto B										
615-2	-	40	60	SH	-	+ ^a	++ ^a	+++ ^a	++++	
				S	-	++	++++	++++	++++	
717	-	-	100	S	++	++++	++++	++++	++++	
489-2	-	30	70	SH	-	-	-	++	++++	
				S	-	++	++++	++++	++++	
884-1	-	30	70	SH	-	+ ^a	++ ^a	+++ ^a	++++	
				S	-	++	++++	++++	++++	
1033-1	-	-	100	S	-	+++	++++	++++	++++	
653	-	67	33	SH	-	-	-	++	+++	
				S	++	+++	++++	++++	++++	
642-2	-	-	100	S	+	++	++++	++++	++++	
934	-	-	100	S	-	++++	++++	++++	++++	
468-1	-	-	100	S	+	++++	++++	++++	++++	
544	-	-	100	S	+	+++	++++	++++	++++	
635-1	-	-	100	S	+	+++	++++	++++	++++	
753	-	100	-	SH	-	+ ^a	+++ ^a	+++ ^a	++++	
1109	-	-	100	S	+	++++	++++	++++	++++	

Continua ...

TABELA 5 - Continuação

Linhagem	Porcentagem de plantas com tipos de reação			Tipos de Lesão	Esporulação em lesões					
	R	SH	S		Períodos de observação (h)					
					24	48	72	96	120	
Padrão										
23	I.	-	-	100	S	-	++	+++	++++	++++
23	N.I.	Sem Sintomas			-					
1424	I.	-	100	-	SH	-	+	++	+++	++++
1424	N.I.	Sem Sintomas			-					

(a) Lesões maiores que vinte espaços internervais.

R Resistente

SH Moderadamente resistente

S Suscetível

- Ausência de esporulação

+ Presença de conidioforos na lesão

++ Início de esporulação na lesão

+++ Esporulação abundante na lesão

++++ Esporulação abundante em tecido adjacente

I. Inoculados

N.I. Não Inoculados.

Na reação das plantas foi observado que as diferentes linhagens S_2 apresentavam diferentes tipos de reação. Observou-se ainda que dentro de uma mesma linhagem S_2 , plantas distintas mostravam diferentes tipos de reação ao patógeno. Os dados obtidos neste experimento mostraram que as linhagens S_2 apresentavam poucos casos de resistência, tendendo a reação das plantas para a suscetibilidade. Nas linhagens padrão, foi notado que a 23 reagiu totalmente como suscetível e a 1424 como intermediária.

Com relação à esporulação foi observado que o início da esporulação era influenciado pelo tipo de lesão. Considerando o início da esporulação em lesões do tipo S, as lesões do tipo R tiveram um retardamento de 48 horas para o início da esporulação, uma vez que nas lesões S a esporulação tinha início 24 a 48 horas após a colocação em câmara úmida, ao passo que as do tipo R somente começavam a esporular 72 a 96 horas após a colocação neste ambiente. Com relação as lesões tipo SH, a extensão do retardamento variava entre as linhagens, sugerindo que este era influenciado pelo tamanho da lesão.

Experimento IV

Os dados obtidos neste experimento são apresentados na Tabela 6

TABELA 6 - Frequência da reação de linhagens S₂ de milho a *Helminthosporium turcicum* e esporulação do patógeno em diferentes tipos de lesão. Experimento IV.

Linhagem	Porcentagem de plantas com tipos de reação			Tipos de Lesão	Esporulação em lesões				
	R	SH	S		Períodos de observação (h)				
					24	48	72	96	120
Composto A									
3022-2	42	36	22	R	-	-	+	+++	++++
				SH ^a	+	++	++++	++++	++++
				SH	-	-	-	-	++++
				S	+	+++	++++	++++	++++
2888	-	-	100	S	-	++	++++	++++	++++
2730	33	17	50	SH ^a	-	++	++++	++++	++++
				SH	-	-	-	++++	++++
				S	-	+++	++++	++++	++++
3142-1	9	82	9	R	-	-	-	++++	++++
				SH ^a	+	+	++++	++++	++++
				SH	-	-	-	++++	++++
				S	-	+++	++++	++++	++++
2588-2	-	50	50	SH ^a	+	+++	++++	++++	++++
				SH	-	-	-	-	++++
				S	+	+++	++++	++++	++++
2401	-	-	100	S	-	+	++++	++++	++++
2067-2	-	10	90	SH ^a	+	+++	++++	++++	++++
				SH	-	-	-	++++	++++
				S	+	+++	++++	++++	++++

Continua ...

TABELA 6 - Continuação

Linhagem	Porcentagem de plantas com tipos de reação			Tipos de Lesão	Esporulação em lesões				
					Períodos de observação (h)				
	R	SH	S		24	48	72	96	120
Composto A									
1848	10	50	40	R	-	-	-	++++	++++
				SH ^a	-	++	++++	++++	++++
				SH	-	-	-	++++	++++
				S	++	+++	++++	++++	
1718	-	-	100	S	-	+++	++++	++++	++++
1606	-	20	80	SH ^a	+	++	++++	++++	++++
				SH	-	-	-	-	++++
				S	+	+++	++++	++++	++++
1495	-	-	100	S	+	+++	++++	++++	++++
822	-	22	78	SH ^a	-	++	++++	++++	++++
				SH	-	-	-	++++	++++
				S	-	++	++++	++++	++++
Composto B									
933-2	-	60	40	SH ^a	-	++	++++	++++	++++
				SH	-	-	-	-	++++
				S	-	+++	++++	++++	++++
10	10	10	80	R	-	+	++	++++	++++
				SH ^a	-	++	++++	++++	++++
				SH	-	-	-	-	++++
				S	-	+++	++++	++++	++++
58-1	-	-	100	S	-	+	++++	++++	++++
119	-	-	100	S	-	+++	++++	++++	++++
179-2	-	-	100	S	+	+++	++++	++++	++++
247	10	50	40	R	-	-	+	++++	++++
				SH ^a	-	++	++++	++++	++++
				SH	-	-	-	-	++++
				S	-	+++	++++	++++	++++

Continua ...

TABELA 6 - Continuação

Linhagem	Porcentagem de plantas com tipos de reação			Tipos de Lesão	Esporulação em lesões				
	R	SH	S		Períodos de observação (h)				
					24	48	72	96	120
Composto A									
316	10	10	80	R	-	-	++	++++	++++
				SH ^a	-	++	++++	++++	++++
				SH	-	-	-	-	++++
				S	-	+++	++++	++++	++++
447	-	50	50	SH ^a	++	+++	+++	++++	++++
				S	-	+++	++++	++++	++++
378-1	-	17	83	SH ^a	-	++	++++	++++	++++
				SH	-	-	-	-	++++
				S	-	+++	++++	++++	++++
515	-	10	90	SH ^a	+	++	++++	++++	++++
				SH	-	-	-	++++	++++
				S	-	++	++++	++++	++++
586	-	10	90	SH ^a	+	++	++++	++++	++++
				SH	-	-	-	++++	++++
				S	+	+++	++++	++++	++++
751-2	-	-	100	S	+	+++	++++	++++	++++
659-2	-	70	30	SH ^a	-	++	++++	++++	++++
				SH	-	-	-	-	++++
				S	-	+++	++++	++++	++++
Padrão									
23 I.	-	50	50	SH ^a	-	++	++++	++++	++++
				SH	-	-	-	++++	++++
				S	+	+++	++++	++++	++++
23 N.I.	Sem Sintomas								

Continua...

TABELA 6 - Continuação

Linhagem	Porcentagem de plantas com tipos de reação			Esporulação em lesões					
	R	SH	S	Tipos de Lesão	Períodos de observação (h)				
					24	48	72	96	120
Padrão									
1424 I.	10	90	-	R	-	-	-	++	++
				SH ^a	+	+++	++++	++++	++++
				SH	-	-	-	-	++++
1424 N.I.	Sem Sintomas			-					
1783 I.	100	-	-	R	-	-	-	+++	++++
1783 N.I.	Sem sintomas								

(a) Lesões maiores que vinte espaços internervais.

R Resistente

SH Moderadamente resistente

S Suscetível

- Ausência de esporulação

+ Presença de conidióforos na lesão

++ Início de esporulação na lesão

+++ Esporulação abundante na lesão

++++ Esporulação nos tecidos adjacentes

I. Inoculados

N.I. Não Inoculados.

Na reação de plantas foi observado que as diferentes linhagens S_2 apresentavam diferentes tipos de reação. Desta forma, algumas linhagens S_2 se mostravam totalmente suscetíveis ao patógeno, ao passo que outras mostravam diferentes tipos de reação. Os resultados revelaram também que plantas diferentes de uma mesma linhagem S_2 , podem apresentar diferentes tipos de reação. Foi observado ainda uma tendência das linhagens S_2 para o tipo de reação de suscetibilidade. Nas linhagens padrão, foi notado que a 23 apresentou 50% das plantas com reação do tipo S e 50% com reação do tipo SH, enquanto a 1424 apresentou 10% das plantas com suscetível e 90% como moderadamente resistentes; por outro lado a linhagem 1783 apresentou-se totalmente resistente.

Com relação a esporulação foram observados os mesmos fatos do experimento II, acentuando-se porém, que o tamanho das lesões SH influenciavam no início da esporulação.

Experimento V

Os resultados obtidos neste experimento são apresentados na Tabela 7 .

TABELA 7 - Frequência dos tipos de reação de linhagens S₂ de milho a *Helminthosporium turcicum* e esporulação ao patógeno em diferentes tipos de lesão. Experimento V .

Linhagem	Porcentagem de plantas com tipos de reação			Tipos de Lesão	Esporulação em lesões					
	R	SH	S		Períodos de observação (h)					
					24	48	72	96	120	
Composto A										
3022-2	13	25	62	R	-	-	-	+++	++++	
				SH	-	-	-	-	-	
				S	+++	++++	++++	++++	++++	
2888	-	-	100	-						
2730	-	-	100	S	-	+	++++	++++	++++	
3142-1	57	43	-	-						
2588-2	14	14	72	R	-	-	-	++++	++++	
				SH	-	-	-	++	++	
				S	-	+	++	++++	++++	
2401	-	58	42	SH	-	+	+	+	++	
				S	-	+	++	++++	++++	
2253	100	-	-	R	-	-	-	++	++++	
2067-2	-	58	42	-						
1848	-	33	67	-						
1718	-	20	80							
1606	-	-	100	-						

Continua ...

TABELA 7 - Continuação

Linhagem	Porcentagem de plantas com tipos de reação			Esporulação em lesões						
	R	SH	S	Tipos de Lesão	Períodos de observação (h)					
					24	48	72	96	120	
Composto A										
1495	-	-	100	-						
822	78	-	22	R	-	-	-	++++	++++	
				S	-	+	++	++++	++++	
Composto B										
933-2	70	-	30	R	-	-	-	-	-	
				S	-	+	++	++++	++++	
10	33	44	23	R	-	-	-	-	-	
				SH	-	+	++	++	+++	
				S	-	+	++	++++	++++	
58-1	-	-	100	-						
119	-	-	100	-						
179-2	10	-	90	R	-	-	-	-	-	
				S	+	+	++	++++	++++	
247	100	-	-	R	-	-	-	-	++++	
316	56	-	44	R	-	-	-	+	++++	
				S	-	+	++	++++	++++	
447	90	-	10	-						
378-1	25	-	75	-						
515	-	-	100	-						
586	-	10	90	-						
751-2	-	-	100	-						

Continua ...

TABELA 7 - Continuação.

Linhagem	Porcentagem de plantas com tipos de reação			Tipos de Lesão	Esporulação em lesões					
	R	SH	S		Períodos de observação (h)					
					24	48	72	96	120	
Composto B										
569-2	60	10	30	R	-	-	-	++	++++	
				SH	-	-	-	+++	++++	
				S	-	+	++	++++	++++	
Padrão										
23	I.	-	-	100	S	-	++	++++	++++	++++
23	N.I.	Sem Sintomas			-					
1783	I.	100	-	-	R	-	-	-	-	-
1783	N.I.	Sem Sintomas			-					

- R Resistente
- S Suscetível
- SH Moderadamente resistente
- I. Inoculados
- N.I. Não Inoculados
- Ausência de esporulação
- + Presença de conidióforos na lesão
- ++ Início de esporulação na lesão
- +++ Esporulação abundante na lesão
- ++++ Esporulação nos tecidos adjacentes.

Quanto a reação das plantas ao patógeno, foi observado que as diferentes linhagens S_2 , apresentavam diferentes tipos de reação, ocorrendo portanto linhagens totalmente resistentes, totalmente suscetíveis e outras apresentando plantas com diferentes tipos de reação. Foi observado ainda que houve uma tendência das linhagens S_2 para reagirem como resistentes ao patógeno. No tocante a reação das linhagens padrão, a 23 apresentava-se totalmente suscetível e a 1783 totalmente resistente.

Com relação a esporulação foi observado que o início da esporulação era influenciado pelo tipo de lesão, havendo um retardamento deste nas lesões SH e R, quando comparadas com as do tipo S. Os resultados observados neste experimento são semelhantes aos dos experimentos III e IV.

5.3 - REAÇÃO DE LINHAGENS S_3 DE MILHO a *Helminthosporium turcicum*

Experimento VI

Os dados obtidos neste experimento são apresentados na Tabela 8.

TABELA 8 - Reação de linhagens S₃ de milho quando inoculadas com *Helminthosporium turcicum*. Frequência dos tipos de reação. Experimento VI.

Linhagem	Tipos de reação ao patógeno	Porcentagem de frequências de plantas com os tipos de reação		
		R	SH	S
Composto A				
86-1 F ₁	R - S	90	-	10
3022-2 F ₁	R	100	-	-
21-1 F ₁	R - S	56	-	44
Composto B				
313 F ₁	R - S	10	-	90
483 F ₁	R - S	20	-	80
64 F ₁	R - S	70	-	30
929 F ₁	S	-	-	100
316 F ₁	R - S	79	-	21
453 F ₁	R - S	75	-	25
688 F ₁	R - S	50	-	50
933-2 F ₁	SH - S	-	82	18
378-1 F ₁	R - S	78	-	22
10 F ₁	R - S	77	-	23
Padrão				
23 I.	S	-	-	100
23 N.I.	-		Sem Sintomas	
1783 I.	R	100	-	-
1783 N.I.	-		Sem Sintomas	

R Resistente
SH Moderadamente resistente
S Suscetível

I. Inoculados
N.I. Não Inoculados

Foi observado que neste experimento as diferentes linhagens S_3 tiveram diferentes comportamentos com relação a reação ao patógeno. Pode ser notado também que houve variação na frequência de plantas resistentes e suscetíveis dentro das linhagens S_3 . Os dados sugerem haver dentro das linhagens S_3 maior tendência para a manifestação do grau de resistência.

A linhagem 3022-2 F_1 quando no estágio S_2 apresentava-se totalmente resistente, fato este que se repete no estágio S_3 . A linhagem 929 F_1 no estágio S_2 mostrava-se totalmente suscetível em condições de campo, sendo que no estágio S_3 conservava esta suscetibilidade total. Por outro lado a linhagem 316 F_1 obtida de planta resistente no estágio S_2 , em condições de estufa, apresentava no estágio S_3 plantas com reação de resistência e plantas com reação de suscetibilidade. A linhagem 933-2 F_1 obtida de plantas resistentes no estágio S_2 , em condições de estufa, apresentava plantas com reação SH e plantas com reação S quando no estágio S_3 . A linhagem 10 F_1 oriunda de plantas com reação SH no estágio S_2 , apresentava plantas com reação R e plantas com reação S no estágio S_3 .

Com relação as linhagens padrão, a 23 apresentava-se totalmente suscetível e a 1783 totalmente resistente.

5.4 - INOCULAÇÃO CRUZADA PARA *Helminthosporium turcicum* DE DIFERENTES HOSPEDEIROS EM MILHO E EM SORGO E ESPORULAÇÃO DO PATÓGENO EM DIFERENTES TIPOS DE LESÃO

Experimento VII

Os dados para este experimento são apresentados nas Tabelas 9 e 10 , respectivamente para patogenicidade e esporulação das diferentes populações.

Quanto a patogenicidade foi observado que isolados de *Helminthosporium turcicum* de milho quando inoculados na linhagem 1783 causavam lesões do tipo resistente e causavam lesões do tipo suscetível na linhagem 23 , porém com diferentes severidades. Quando estes isolados foram inoculados em sorgo, nenhum deles foi capaz de atacá-lo, independente do cultivar considerado.

Com relação a isolados de *Helminthosporium turcicum* do sorgo, foi observado que nenhum deles conseguiu causar lesão do tipo suscetível em nenhuma das linhagens de milho. No tocante ao próprio hospedeiro somente um isolado do patógeno conseguiu ser patogênico ao cultivar YE-Y 101 .

Isolados de *Helminthosporium turcicum* do capim sudão mostraram-se incapazes de causar reação de suscetibilidade quer nas linhagens de milho, quer nos cultivares de sorgo testados.

TABELA 9 - Patogenicidade de diferentes isolados de *Helminthosporium turcicum* a duas linhagens de milho e a dois cultivares de sorgo. Experimento VII

Número da fonte de inóculo e origem	Hospedeiros			
	Milho		Sorgo	
	23	1783	IAC-SART	TE-Y 101
5 - Capim Sudão	-	-	-	-
9 - Milho	+	-	-	-
11 - Sorgo	-	-	-	-
24 - Milho	++	-	-	-
26 - Milho	+	-	-	-
36 - Capim Sudão	-	-	-	-
44 - Milho	++	-	-	-
51 - Sorgo	-	-	-	-/+
52 - Milho	++	-	-	-
53 - Milho	++	-	-	-
54 - Milho	+	-	-	-
Testemunha	Sem Sintomas		Sem Sintomas	

- Isolado não patogênico
- + Isolado moderadamente patogênico
- ++ Isolado altamente patogênico.

TABELA 10 - Esporulação de diferentes isolados de *Helminthosporium turcicum*, "in vivo", em lesões de plantas de milho e de sorgo. Experimento VII.

Hospedeiro	Fontes de inóculo e origem	Reação	Períodos de observação (h)				
			24	48	72	96	120
Linhagem de Milho 23	9 - Milho	S	+	+++	++++	++++	++++
	11 - Sorgo	R	-	-	-	-	-
	24 - Milho	S	+	++	++++	++++	++++
	36 - Capim Sudão	R	-	-	-	-	++++
	44 - Milho	S	+	+++	++++	++++	++++

Linhagem de Milho 1783	9 - Milho	R	-	-	+	++++	++++

Sorgo IAC-SART	5 - Capim Sudão	R	-	-	-	++	++++
	11 - Sorgo	R	-	-	-	++++	++++
	24 - Milho	R	-	-	-	++++	++++
	26 - Milho	R	-	-	-	-	++++
	36 - Capim Sudão	R	-	-	-	++	++++
	44 - Milho	R	-	-	-	++++	++++
	51 - Sorgo	R	-	-	-	-	++++
	52 - Milho	R	-	-	-	-	++++
	53 - Milho	R	-	-	-	++++	++++
	54 - Milho	R	-	-	-	-	++++

Continua ...

TABELA 10 - Continuação

Hospedeiro	Fontes de inóculo e origem	Reação	Períodos de observação (h)				
			24	48	72	96	120
Sorgo TE-Y 101	5 - Capim Sudão	R	-	-	-	++++	++++
	11 - Sorgo	R	-	-	-	+	++++
	24 - Milho	R	-	-	-	++++	++++
	26 - Milho	R	-	-	-	++++	++++
	36 - Capim Sudão	R	-	-	-	++++	++++
	51 - Sorgo	S	+	+++	+++	++++	++++
	52 - Milho	R	-	-	-	-	++++
	53 - Milho	R	-	-	-	++++	++++
	54 - Milho	R	-	-	-	++	++++

- R Resistência
- S Suscetibilidade
- Ausência de esporulação
- + Presença de conidióforos na lesão
- ++ Início de esporulação na lesão
- +++ Esporulação abundante na lesão
- ++++ Esporulação em tecidos adjacentes.

Quanto a esporulação foi observado uma defazagem no início desta, conforme o tipo de reação apresentado. Com relação a esporulação dos isolados de *Helminthosporium turcicum* de milho, foi notado que, sobre o próprio hospedeiro suscetível, esta tinha início 24 horas após a colocação em câmara úmida, ao passo que sobre sorgo ou milho resistente havia um retardamento de 72 horas quando comparado com a esporulação em milho suscetível. No tocante a esporulação de isolados de sorgo, foi observado que sobre milho suscetível não ocorria esporulação no espaço de tempo observado, ao passo que sobre o cultivar IAC-SART a esporulação tinha início 96 ou 120 horas após a colocação em câmara úmida ; por outro lado, sobre o cultivar TE-Y 101 , o isolado da fonte de inóculo 11 iniciava a esporulação 96 horas após a colocação em câmara úmida, ao passo que o isolado da fonte de inóculo 51 tinha a esporulação iniciada 24 horas após a montagem do ensaio. No tocante aos isolados de *Helminthosporium turcicum* de capim sudão, sobre milho suscetível, iniciavam sua esporulação 120 horas após a colocação em câmara úmida, ao passo que sobre os cultivares de sorgo este início era constatado 96 horas após a montagem do teste.

Experimento VIII

Os resultados para este experimento são apresentados nas Tabelas 11 e 12, respectivamente para patogenicidade e esporulação dos diferentes isolados do patógeno.

Quanto a patogenicidade dos isolados testados, foram observados os mesmos fatos do experimento VII, o mesmo ocorrendo quanto a esporulação.

TABELA 11 - Patogenicidade de diferentes isolados de *Helminthosporium turcicum* a duas linhagens de milho e a dois cultivares de sorgo. Experimento VIII

Número da fonte de inóculo e origem	Hospedeiros			
	Milho		Sorgo	
	23	1783	IAC-SART	YE-Y 101
9 - Milho	+	-	-	-
11 - Sorgo	-	-	-	-
26 - Milho	+	-	-	-
52 - Milho	++	-	-	-
53 - Milho	++	-	-	-
54 - Milho	+	-	-	-
Testemunha	Sem Sintomas		Sem Sintomas	

- Isolado não patogênico
- + Isolado moderadamente patogênico
- ++ Isolado altamente patogênico.

TABELA 12 - Esporulação de diferentes isolados de *Helminthosporium turcicum*, "in vivo", em lesões de plantas de milho e de sorgo. Experimento VIII

Hospedeiro	Fontes de inóculo e origem	Reação	Períodos de observação (h)				
			24	48	72	96	120
Linhagem de Milho 23	9 - Milho	S	+	++	++	++++	++++
	11 - Sorgo	R	-	-	-	+++	++++
	26 - Milho	S	+	++	++	++++	++++
	52 - Milho	S	-	++	++	++++	++++
	53 - Milho	S	+	++	++	++++	++++
	54 - Milho	S	-	++	++	++++	++++

Linhagem de Milho 1783	9 - Milho	R	-	-	-	+++	++++
	11 - Milho	R	-	-	-	++++	++++
	26 - Milho	R	-	-	-	-	++++
	52 - Milho	R	-	-	-	-	++++
	53 - Milho	R	-	-	-	++++	++++
	54 - Milho	R	-	+	+++	++++	++++

Sorgo	11 - Sorgo	R	-	-	-	++++	++++
IAC-SART	52 - Milho	R	-	-	-	++++	++++

Sorgo	11 - Sorgo	R	-	-	-	-	++++
TE-Y 101	52 - Milho	R	-	-	-	++	+++

- R Resistência
- S Suscetibilidade
- Ausência de esporulação
- + Presença de conidióforos na lesão
- ++ Início de esporulação na lesão
- +++ Esporulação abundante na lesão
- ++++ Esporulação em tecidos adjacentes.

6 - DISCUSSÃO

No melhoramento de plantas visando a resistência a patógenos, a capacidade de detecção da reação de resistência e suscetibilidade é muito importante. A manifestação da reação de resistência é influenciada por uma série de fatores. É sabido que o ambiente interfere nas diferentes fases do ciclo das relações patógeno-hospedeiro. Desta forma, MISHA e SINGH (1963) evidenciaram o efeito da temperatura e umidade na germinação de conídios e crescimento de *Helminthosporium turcicum*; ANDREW *et alii* (1964) ressaltaram a importância destes dois fatores e mais a luminosidade no desenvolvimento desta doença. O efeito da concentração de inóculo de *Helminthosporium turcicum* sobre a manifestação da resistência já foi relatado por HILU (1964), quando menciona que as plantas inoculadas com suspensão com alta concentração de esporos não conservavam sintomas do tipo "flecks", pois tornavam-se com lesões características de suscetibili-

dade, ao passo que as inoculadas com baixa concentração, mantinham o tipo de lesão inicial.

Nas condições em que foi realizado o experimento, foi observado que com uma concentração de 2.500 conídios por ml, ocorreram plantas "escape" na linhagem 23, enquanto que com uma concentração de 10.000 conídios por ml, algumas plantas da linhagem 1783 mostravam sintomas do tipo suscetível. Este fato revela a importância da concentração do inóculo na manifestação da reação da planta ao patógeno, uma vez que concentrações de 2.500 conídios por ml permitem "escapes", enquanto que concentrações de 10.000 conídios por ml induzem plantas resistentes a apresentarem reação de suscetibilidade.

Com relação ao diferente comportamento entre linhagens S_2 a *Helminthosporium turcicum*, era de se esperar que linhagens com diferentes graus de resistência ocorressem, uma vez que não foi realizada seleção específica para resistência a *Helminthosporium turcicum*. Os testes de patogenicidade revelaram a existência de fontes de resistência a este patógeno em linhagens S_2 dos compostos A e B do Instituto de Genética da E. S. A. "Luiz de Queiroz".

Quanto ao diferente comportamento entre plantas de uma mesma linhagem, os testes revelaram a necessidade de autofecundações em material segregando para resistência, a fim de obter linhagens resistentes homozigotas para os casos de resistência a *Helminthosporium turcicum*, provavelmente devida ao gene Ht.

Os casos nos quais foram constatadas as reações S e SH em diferentes plantas, provavelmente refletem diferenças na resistência hori

zontal das plantas, o que é observado mediante o tamanho e o número de le
sões.

A obtenção de linhagens isogênicas, variando somente para presença ou ausência do gene Ht , será facilitada fazendo-se o cruzamento entre plantas de uma mesma linhagem que difiram no tocante a resistência.

É interessante observar que os testes realizados nos meses de agosto e setembro, revelaram maior ocorrência de casos de suscetibilidade que aqueles realizados em fevereiro e abril. Este fato sugere que nos dois casos de repetições de experimento as condições ambientais tenham influido na reação do hospedeiro ao patógeno. Quanto ao efeito das condições ambientais na manifestação dos sintomas, ANDREW *et alii* (1964), es
tudando os efeitos da temperatura e luz, concluíram que temperatura elevada favorece o desenvolvimento da doença ; a influência da luminosidade foi verificada pelos autores, quando constataram que "seedlings" de milho inoculados e deixados sob doze horas de luz diárias, mostravam-se mais suscetiti
veis ao patógeno, que aqueles deixados sob regime de dezesseis horas diã
rias de luz. É provável que as diferentes condições de luminosidade, in
tensidade e duração, entre outros fatores, nas épocas mencionadas possam ser responsáveis pelas diferenças observadas entre repetições posteriores de experimentos.

Outros fatores que influenciam a reação de plantas ao patógeno são temperatura e umidade relativa. Assim, nas condições em que foram conduzidos os testes é bem provável que a umidade relativa tenha também interferido, uma vez que no inverno a estufa é aquecida, sem no entanto ter controle sobre a umidade relativa.

Assim, muito provavelmente, as condições ambientais prevalentes durante os experimentos III e IV interferiram na manifestação da resistência.

É desejável que estudos para variáveis ambientais, tomadas isoladamente ou em conjunto, sejam conduzidos para a determinação de seus efeitos sobre a manifestação de sintomas.

O comportamento das linhagens padrão, 23 suscetível e 1783 resistente, revelou que os isolados de *Helminthosporium turcicum* ~~diversos~~ não foram capazes de causar lesões suscetíveis na linhagem 1783. Sendo a reação de resistência da linhagem 1783 manifestada por lesões cloróticas e clorótico-necróticas, muito provavelmente seja devida ao gene Ht e a não ocorrência de suscetibilidade nesta linhagem revela a ausência de raças que pudessem atacá-la, considerando o fato de que segundo BERGQUIST e MASIAS (1974) já existe a raça 2 de *Helminthosporium turcicum*.

As reações em "seedlings" resultantes de sementes obtidas de plantas S₂ selecionadas em estufa e campo, revelaram uma variação na reação das plantas, sendo que houve certos casos em que aparentemente ocorreu uma segregação na proporção de três plantas resistentes para uma suscetível, havendo também casos que se revelaram ou como suscetíveis ou como resistentes.

É interessante observar que sementes oriundas de planta suscetível, resultante de infecção natural e selecionada em condições de campo, quando autofecundada deu origem a uma progênie totalmente suscetível, como o caso da 929 F₁.

De três plantas S_2 selecionadas no estágio de "seedlings" como resistentes em condições de estufa, foram obtidas três linhagens S_3 sendo uma totalmente resistente, uma segunda segregante na proporção de 3:1 entre plantas resistentes e suscetíveis, e uma terceira com a maioria das plantas com resistência moderada.

De um seedling S_2 selecionado com resistência moderada (SH), foi obtida uma progênie S_3 segregante numa proporção de três plantas resistentes para uma planta suscetível.

Estes dados revelam que nas condições em que foram conduzidos os testes, foi possível verificar ser o caráter de resistência ou suscetibilidade um caráter herdável, sugerindo que nos casos onde houve segregação da herança esta pode ser atribuída a um gene, provavelmente ao gene Ht.

Por outro lado, é interessante observar que a seleção de uma planta S_2 com reação SH deu origem a uma linhagem S_3 segregando para resistência. Assim, a reação SH observada em plantas pode bem refletir a presença de genes de resistência em condições de seedlings, uma vez que a reação do gene Ht, em plantas adultas no campo, pode se apresentar como lesões necróticas envolta por halos e não somente com a ocorrência de "flecks".

Com relação a patogenicidade dos isolados de *Helminthosporium turcicum* do milho, foi verificado que existe uma especificidade do patógeno para a planta hospedeira milho, uma vez que eles não causaram sintomas de suscetibilidade em hospedeiros diferentes daqueles dos quais foram obtidos. É interessante observar que entre patógenos com

especificidade para o milho, foram detectadas diferenças na severidade dos sintomas provocados pelos diferentes isolados. O conhecimento deste fato é de grande importância em trabalhos de melhoramento quando se trabalha com culturas monospóricas, procurando evitar isolados com pouca patogenicidade. ANDREW *et alii* (1964) observaram dados concordantes com os obtidos nos testes, uma vez que segundo os autores, diferentes isolados podem variar quanto a capacidade em atacar plantas de milho suscetíveis.

Com relação aos isolados de *Helminthosporium turcicum* do sorgo, foi observado que eles não possuem a capacidade de atacar o milho. Fatos semelhantes foram relatados por LEFEBVRE e SHERWIN (1945) ; BHOWMIK e PRASADA (1970) e SURTLEFF *et alii* (1973).

Dos isolados de sorgo, somente um foi capaz de atacar plantas de um cultivar de sorgo, os demais isolados de sorgo não foram patogênicos a este hospedeiro, embora fossem obtidos a partir de isolamentos de folhas, não ocorrendo, provavelmente a perda de patogenicidade. É bem provável que a semelhança do que foi observado em milho, ocorra resistência à *Helminthosporium turcicum* do sorgo em certos cultivares.

Assim, diferentes isolados de *Helminthosporium turcicum* testados refletem graus diferentes de especialização, podendo ser considerados como *formas specialis*, como já foi relatado por BERGQUIST e MASIAS (1974).

Quanto ao estado homo ou heterocariótico dos isolados, que segundo BERGQUIST e MASIAS (1974) influe sobre a patogenicidade, nada pode ser afirmado.

A constância dos dados obtidos para as linhagens padrão 23 e 1783 em diferentes testes de patogenicidade, sugere que os isolados de *Helminthosporium turcicum* usados, obtidos da fonte de inóculo 9, sejam representativos de uma raça.

Com relação a esporulação de *Helminthosporium turcicum* "in vivo", em lesões de diferentes tipos, pode ser observado que existe uma relação evidente entre o tipo de reação e o tempo de câmara úmida necessário para o início da esporulação. Desta forma, nas lesões resistentes houve um retardamento acentuado da esporulação quando comparadas com lesões suscetíveis, dados estes concordantes com os obtidos por KINSEY (1971).

Este fato é importante pois permite confirmar mediante teste de laboratório, reações observadas em plantas.

É importante ressaltar a influência do tamanho da lesão no retardamento da esporulação do patógeno, uma vez que lesões do tipo SH quando pequenas, menores que vinte espaços internervais, retardam a esporulação do patógeno, enquanto que em lesões maiores não ocorre o fato mencionado. Assim é importante a observação das lesões na planta como um todo, pois em plantas suscetíveis podem ocorrer lesões do tipo SH que não se desenvolveram por influência de outros fatores, o que não deve ser confundido com plantas possuidoras somente de lesões SH pequenas.

Os testes de patogenicidade revelaram a existência de fontes de resistência a *Helminthosporium turcicum* em diferentes linhagens. O estudo da herança de tal caráter como uma comparação com a resistência conferida pelo gene Ht de material conhecido é altamente desejável.

7 - CONCLUSÕES

Pelos resultados obtidos no presente trabalho, pode-se concluir que:

- 1 - A concentração do inóculo de *Helminthosporium turcicum* influe na reação de linhagens de milho suscetível e resistente em condições de campo, quando testadas em condições de casa-de-vegetação, sendo a concentração mais indicada a de 5.000 conídios por ml.
- 2 - As diferentes linhagens de milho S₂ e S₃ testadas apresentam diferentes graus de resistência ao patógeno, sendo que certas linhagens apresentam plantas com diferentes tipos de reação ao patógeno.

- 3 - Os isolados de *Helminthosporium turcicum* apresentaram patogenicidade específica. Os isolados de milho, foram patogênicos somente ao milho. Os isolados do patógeno obtidos de capim sudão não atacaram nem milho e nem os cultivares de sorgo testados. Os isolados do patógeno obtidos de sorgo não atacaram o milho, sendo que somente um deles ataca o cultivar de sorgo TE-Y 101 .
- 4 - Existe uma relação entre o tipo de reação induzida por *Helminthosporium turcicum* em plantas e a esporulação "in vivo" do patógeno nestas lesões.
- 5 - A reação de resistência em milho aos isolados de *Helminthosporium turcicum* se revelou como pequenos pontos cloróticos e ou com pequenas lesões necróticas circundadas por halos cloróticos.

8 - SUMMARY

To study the effect of inoculum concentrations of *Helminthosporium turcicum* Pass., on corn seedlings reactions, when inoculated under greenhouse conditions, concentrations of 2 500 , 5 000 and 10 000 conidia per ml were tested. Two pure lines of corn were used as host plants ; one resistant and one susceptible, under field conditions. Some plants of the susceptible line did not show susceptible type lesions, when inoculated with 2 500 conidia per ml, whereas, with 10 000 conidia per ml, some plants of the resistant line showed susceptible type reactions. When inoculated with 5 000 conidia per ml the plants reacted according to their field reactions.

To evaluate resistance level, of seedlings of S_2 and S_3 corn lines, to *Helminthosporium turcicum*, an isolate of the corn pathogen, was used. The results of the evaluation showed that different lines presented different resistance levels. Plants with different reactions were also observed within a line.

Isolates of *Helminthosporium turcicum* from corn, sorghum and sudan grass were inoculated on resistant and susceptible lines of corn, and on two sorghum cultivares, under greenhouse conditions. Isolates from corn were only pathogenic to susceptible lines of corn. Isolates from sudan grass were not pathogenic to the host plants tested, whereas, sorghum isolates were not pathogenic to corn lines. Furthermore, only one of the isolates was pathogenic to one cultivar.

Leaf pieces were collected during the tests of pathogenicity, to study the relationship between plant type reaction, to *Helminthosporium turcicum*, and pathogen sporulation, "in vivo". On susceptible type lesions, sporulation initiated in 24-48 hours; on resistant type lesions in 72-96 hours; whereas on moderately resistant type lesions sporulation initial depended upon the size of the lesions.

9 - LITERATURA CITADA

ANDREW, R. H. ; P. R. ROWRE e E. A. OELKE, 1964. Certain Factores Influencing the Development of Northern Corn Leaf Nlight Following Seedlings Inoculation. Crop Science. Madison, 4: 4-7.

BERGQUIST, R. R. e O. R. MASIAS, 1974. Physiologic Specialization in *Trichometasphaeria turcica* f. sp. ~~zea~~ and *T. turcica* f. sp. *sorghii* in Hawaii. Phytopathology. St. Paul, 64: 645-649.

BHOWMIK, T. P. e R. PRASADA, 1970. Physiologic Specialization in *Helminthosporium turcicum* Pass. from Indian. Phytopathology 2 68: 84-87.

CHENULU, V. V. e T. S. HORA, 1962. Studies of Loses to *Helminthosporium turcicum* blight of maize. Indian Phytopathology 15: 235-237.

- DUNN, G. M. e T. NAMM, 1970. Gene Dosage Effects on Monogenic Resistance to Northern Corn Leaf Blight. Crop Sci. Madison, 19: 352-354.
- ELLIOTT, C. e M. T. JENKINS, 1946. *Helminthosporium turcicum* Leaf Blight of Corn. Phytopathology, St. Paul, 36: 660-666.
- GALLI, F. *et alii*, 1969. Manual de Fitopatologia. Doenças das Plantas e seu Controle. Editora Agronômica Ceres, São Paulo, Brasil, 650 p.
- HAMID, A. H. e M. ARAGAKI, 1975. Inheritance of Pathogenicity in *Setosphaeria turcica*. Phytopathology, St. Paul, 65: 280-283.
- HILU, H. M. e A. L. HOOKER, 1963. Monogenic Chlorotic Lesion Resistance to *Helminthosporium turcicum* in Corn Seedlings. Phytopathology, St. Paul, 53: 909-912.
- HILU, H. M., 1964. Cultural Variability, Conidial Production and Pathogenicity of *Helminthosporium turcicum*. Mycologia, Lancaster, 56: 775-777.
- HILU, H. M. e A. L. HOOKER, 1965. Localized Infection by *Helminthosporium turcicum* on Corn Leaves. Phytopathology, St. Paul, 55: 189-192.
- HOOKER, A. L. ; R. R. NELSON e H. M. HILU, 1965. Avirulence of *Helminthosporium turcicum* on Monogenic Resistant Corn. Phytopathology, St. Paul, 55: 462-463.
- HOOPE, P. E. e D. C. ARNY, 1966. Factors Affecting the Survival of *Helminthosporium turcicum* in Corn Leaf Tissues. Plant Dis. Repr. Beltsville, 50: 377-380.

- JENKINS, M. Y. ; A. L. ROBERT e W. R. FINDLEY, 1952. Inheritance of resistance to *Helminthosporium turcicum* Leaf Blight in Populations of F₃ Progenies. Agronomy Journal, Madison, 44: 438-442.
- JENKINS, M. T. ; A. L. ROBERT e W. R. FLINDEY, 1956. Reaction of Inbred Lines of Corn to *Helminthosporium turcicum* Pass. in Different Seasons. Agronomy Journal, Madison, 49: 481-483.
- KINSEY, J. G., 1971. Pathogenicity of *Helminthosporium turcicum* Following Serial Passage Through Corn. University of Illinois. (Tese de M.S.).
- LEFEBVRE, C. L. e H. S. SHERWIN, 1945. Races of *Helminthosporium turcicum*. Phytopathology, St. Paul, 35: 587 (Abstr.).
- LUTTRELL, E. S., 1957. *Leptosphaeria (Metasphaeria)* Perfect Stages of *Helminthosporium turcicum* and *Helminthosporium rostratum*. Phytopathology, St. Paul, 47: 313 (Abst.).
- LUTTRELL, E. S., 1958. The Perfect Stage of *Helminthosporium turcicum*. Phytopathology, St. Paul, 48: 281-287.
- MALCA, I. e A. J. ULLSTRUP, 1962. Effects of Carbon and Nitrogen on Growth and Sporulation of Two Species of *Helminthosporium*. Bull. Torrey Botan. Club. Lancaster, 89: 240-249.
- MASIAS, O. R. e R. R. BERGQUIST, 1974. Host Specific Forms of *Trichometasphaeria turcica* in Relation to Homokaryons and Heterokaryons in Nature. Phytopathology, St. Paul, 64: 436.
- MISRA, A. P. e S. P. SINGH, 1963. Effects of Temperature and Humidity on the Development of *Helminthosporium turcicum* Pass. Indian Phytopathology, 16: 158-163.

- NATSVLISHVILI, A. A. e G. O. MACHAVARIANI, 1969. On the Study of Conditions Favouing Epiphytotic Helminthosporiosis of Maize. Annual Report for 1969 . Federal Biological Inst. for Agriculture and Florestry at Berlim and Brunswick. 101-104.
- NELSON, R. R. e G. L. SCHEIFELE, 1970. Factors Affecting the Overwintering of *Trichometasphaeria turcica* on Maize. Phytopathology, St. Paul, 60: 369-370.
- ROBERT, A. L. e M. L. JENKINS, 1949. Variability in Monoconidial and Hyphal Tip Isolates of *Helminthosporium turcicum* . Phytopathology, St. Paul, 39: 504 (Abst.) .
- ROBERT, A. L., 1960. Physiologic Specialization in *Helminthosporium turcicum* . Phytopathology, St. Paul, 50: 217-220.
- ROBERT, A. L. e G. F. SPRANGUE, 1960. Adaptacion of Corn Leaf Blight Fungus to a Resistant and Susceptible Corn Host. Phytopathology, St. Paul, 50: 261-263.
- ROBERT, A. L., 1964. Effects of Temperature and Relative Humity on Longevity of *Trichometasphaeria turcica* . Plant Dis. Reporter, Beltsville, 48: 943-946.
- ROBLES, L. H., 1949. The Patogenecity of Species of *Helminthosporium* on Corn. Phytopathology, St. Paul, 39: 1020-1028 .
- RODRIGUEZ, A. E. e A. J. ULLSTRUP, 1962. Pathogenicity of Monoasporic Progenies of *Trichometasphaeria turcica* . Phytopathology, St. Paul, 52: 599.

- SHURTLEFF, M. C. *et alii*, 1973. A Compendium of Corn Diseases. The Cooperative Extension Service. University of Illinois and Extension Service. United States Department of Agriculture Cooperating.
- STAKMAN, E. C. e J. G. HARRAR, 1957. Principles of Plant Pathology. The Ronald Press Co. New York, 581 p.
- ULLSTRUP, A. J. e S. R. MILES, 1957. The Effects of Some Leaf Blights of Corn on Grain Field. Phytopathology, St. Paul, 47: 331-336.
- ULLSTRUP, A. J., 1970. A Comparison of Monogenic and Poligenic Resistance to *Helminthosporium turcicum* in Corn. Phytopathology, St. Paul, 60: 1597-1599.
- VAN DER PLANK, J. E., 1968. Disease Resistance in Plants. Academic Press. New York and London. 206 p.
- VANSCHAICK, T. e P. M. LEROUX, 1959. Genetic Nature of Some Sources to Leaf Blight in Maize Caused by *Helminthosporium turcicum*. S. Afric. J. Agric. Sci., Pretoria, 2: 255-259.
- VIEGAS, A. P., 1946. Alguns Fungos do Brasil. Gragantia, São Paulo VI (8): 353-442.