REAÇÕES DE LINHAGENS E HÍBRIDOS DE MILHO (*Zea mays* L.) Á *Helminthosporium carbonum* Ullstrup

GERSON PEREIRA RIOS
EMBRAPA

Orientador: Prof. Dr. Clélio Lima Salgado

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

PIRAÇICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Fevereiro, 1978

À

memória de minha mãe,

ao meu pai e meus irmãos,

meu reconhecimento.

A

minha esposa Marta

e aos meus filhos:

Ester,

Miguel Augusto,

Evandro,

dedico.

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

O autor expressa seus agradecimentos:

À Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias (EMBRAPA) e ao Departamento de Fitopatologia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", pelos recursos, e oportunidades concedidas;

Ao Prof. Dr. Clélio Lima Salgado, pela orientação e estímulo durante a realização deste trabalho;

Ao Prof. Dr. Eric Balmer, pelas sugestões, colaboração e revisão dos originais;

Ao colega Henry Even Bajungu, pela versão do resumo para o Inglês;

Ao colega Gilson Soares da Silva, pela elaboração das fotografias;

Aos colegas de curso, aos Professores e funcionários da ESALQ, que direta ou indiretamente colaboraram na realização deste trabalho.

ÍNDICE

Página

1. RESUMO 1

2. INTRODUÇÃO 4

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 6

4. MATERIAIS E MÉTODOS 15

4.1. Isolamento do Patógeno e sua Preservação 15

4.2. Isolados Utilizados 16

4.3. Obtenção da Suspensão de Conídios 16

4.4. Testes de Patogenicidade 17

4.5. Estudo da Esporulação 19

4.6. Obtenção das Linhagens e Híbridos 20

4.7. Experimentos Realizados 20

4.7.1. Reações de linhagens e híbridos F_1 de milho a *H. carbonum* em condições de campo 20

4.7.2. Reações de linhagens e híbridos F_1 de milho a *H. carbonum* em condições de casa de vegetação. 21

4.7.3. Reações de híbridos F_1, F_2 e retrocruzamentos de milho a *H. carbonum*, em condições de casa de vegetação 21

4.7.4. Esporulação de *H. carbonum* em segmentos de tecido foliar com lesões, destacados em diferentes épocas de plantas inoculadas em campo . . 22

4.7.5. Esporulação de *H. carbonum* em segmentos de tecido foliar destacados de híbridos F_1, F_2 e retrocruzamentos desenvolvidos e inoculados em casa de vegetação. 22

4.7.6. Patogenicidade em linhagem suscetível, de reisolados obtidos em lesões de diferentes tamanhos após a passagem seriada em plantas resistentes e suscetíveis 22

Página

5. RESULTADOS 24

5.1. Reações de Linhagens e Híbridos F_1 de Milho a H. carbonum em Condições de Campo 24

5.2. Reações de Linhagens e Híbridos F_1 de Milho a H. carbonum em Condições de Casa de Vegetação 26

5.3. Reações de Híbridos F_1, F_2 e Retrocruzamentos de Milho a H. carbonum 29

5.4. Esporulação de H. carbonum em Segmentos de Folhas com Lesões, Destacadas de Plantas Inoculadas em Campo 38

5.5. Esporulação de H. carbonum em Segmentos de Folhas com Lesões, Destacados de Linhagens e Híbridos Inoculados em Condições de Casa de Vegetação 42

5.6. Patogenicidade de Reisolados de H. carbonum Provenientes de Lesões Grandes e Pequenas após Passagens Seriadas por Diferentes Hospedeiros 48

6. DISCUSSÃO. 51

6.1. Reações de Linhagens e Híbridos F_1 de Milho a H. carbonum 51

6.2. Reações de Linhagens e Híbridos F_1, F_2 e Retrocruzamentos de Milho a H. carbonum 54

6.3. Esporulação de H. carbonum em Segmentos de Folhas com Lesões em Condições de Câmara Úmida 58

6.4. Patogenicidade de Reisolados Provenientes de Lesões Grandes, Pequenas e Efeito de Passagem Seriada . . 60

7. CONCLUSÕES 64

8. SUMMARY 66

9. LITERATURA CITADA 68

10. APÊNDICE 72

1. RESUMO

No presente trabalho foram estudadas as reações de linhagens e híbridos de milho a um isolado de *Helminthosporium carbonum* Ullstrup, segundo tamanho médio das lesões em condições de campo e de casa-de-vegetação. Os híbridos F1 apresentaram lesões de comprimento médio maior do que o das lesões formadas no respectivo progenitor resistente a menor do que o das formadas no progenitor suscetível.

O tipo de lesões dos híbridos F1 quanto à conformação, tamanho médio e presença de clorose foi diferente daquele apresentado pelos progenitores resistente e suscetível.

Tomando-se como critério de avaliação o tipo de lesão induzido pelo patógeno e caracterizado pela conformação, pigmentação, tamanho médio e presença de clorose, foi possível determinar um tipo de "resistência intermediária" para os híbridos F1 heterozigotos.

Os estudos das gerações F1, F2 e retrocruzamentos, resultantes de cruzamentos da linhagem resistente 20A-2 com as linhagens suscetíveis 929-B5 e 316-B1 e da linhagem resistente 483-B4 com a suscetível

929-B5, permitiram determinar que a herança para resistência é governada por um par de genes com dominância parcial.

Através do estudo da esporulação do patógeno em câmara úmida, em segmentos de folhas com lesões, verificou-se o efeito do tipo da lesão e da idade do tecido sobre o início e intensidade de esporulação do patógeno.

A esporulação em tecidos de plantas resistentes de progênies segregantes se iniciou mais tarde e teve uma esporulação menos intensa quando comparada com aquela observada em tecidos de plantas suscetíveis sugerindo que o emprego do estudo da esporulação em câmara úmida pode fornecer valioso auxílio no estudo de avaliação do grau de resistência das plantas a H. carbonum.

Após passagem seriada de reisolados do patógeno provenientes da linhagem 929-B5, por hospedeiros resistente ou suscetível, verificou-se uma tendência de reisolados provenientes de lesões grandes formarem, no hospedeiro suscetível, lesões maiores que aquelas formadas por reisolados provenientes de lesões pequenas.

A passagem dos reisolados no hospedeiro resistente por 4 vezes consecutivas revelou uma tendência para um decréscimo na patogenicidade dos mesmos na linhagem suscetível. No entanto, 4 passagens dos reisolados pela linhagem resistente não foram suficientes para evidenciar a presença de algum "variante" patogênico à linhagem 20A-2, resistente.

A linhagem 20A-2 mostrou-se mais resistente que a linhagem 483-B4. Igualmente, os híbridos heterozigotos em cuja composição a linhagem 20A-2 participou como progenitor resistente foram mais resistentes que

aqueles em cuja composição participou a linhagem resistente 483-B4. Desta maneira, a linhagem 20A-2 foi considerada mais promissora que 483-B4 como fonte de resistência para trabalhos de melhoramento.

2. INTRODUÇÃO

A importância do milho como cultura, no Brasil e no mundo, é incontestável, justificando pesquisas que se desenvolvem no sentido de melhor conhecimento das doenças que a afetam desde que potencialmente capazes de diminuir a produtividade ou que, comprovadamente, tenham causado prejuízos.

A severidade das doenças que afetam o milho, além de depender do patógeno e condições de ambiente, depende também da resistência ou suscetibilidade do hospedeiro. Assim sendo, qualquer programação no sentido mais amplo, visando o controle destas doenças deve incluir, além de práticas que controlam o ambiente e uso de produtos químicos, o desenvolvimento de cultivares resistentes ou tolerantes à infecção do patógeno.

Conhecimentos preliminares sobre o agente causal, hospedeiro, processos envolvidos no complexo patógeno-hospedeiro, além dos fatores que determinam início e desenvolvimento de cada doença, são pré-requisitos indispensáveis para que uma programação adequada tenha bom êxito.

A presente pesquisa visou estudar o comportamento de algumas linhagens e respectivos híbridos de milho a Helminthosporium carbonum Ulls

trup, através de diferentes métodos de avaliação para resistência e suscetibilidade.

Outros objetivos a serem alcançados no presente trabalho incluem:

1. Estudar a reação a Helminthosporium carbonum de linhagens e híbridos F1 de milho quanto ao tamanho médio e tipo das lesões.

2. Estudar o modo de herança para resistência a H. carbonum.

3. Comparar alguns métodos de avaliação de resistência incluindo métodos baseados na sintomatologia e na esporulação do patógeno, em tecido resistente e suscetível.

4. Estudar o efeito da passagem seriada do patógeno por hospedeiros resistente e suscetível na patogenicidade do mesmo.

5. Verificar a presença no isolado 7L, de biótipos, de diferente agressividade e seu papel na formação de lesões grandes e pequenas numa mesma área foliar suscetível.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

As espécies de Helminthosporium, mais frequentemente encontradas em milho (Zea mays L.) são representadas por Helminthosporium turcicum Passerini (Tricho metasphaeria turcica Luttrell), Helminthosporium maydis Nisikado & Miyake (Cochliobolus heterostrophus Drechsler) e Helminthosporium carbonum Ullstrup (Cochliobolus carbonum Nelson), (Hooker et alii , 1973).

A distinção entre as três espécies pode ser conseguida através da morfologia dos conídios e através dos sintomas induzidos no hospedeiro (Drechsler 1923 ; Ullstrup 1941a e 1944 ; Luttrell 1951 e Shurtleff et alii 1973).

Segundo Ullstrup (1944), H. carbonum apresenta as seguintes características morfológicas: conídios de comprimento variando de 25 a 100 µm e largura de 7 a 17,7 µm e tendo as extremidades arredondadas. São retos ou levemente curvos, de coloração marrom-olivácea-escura e com 2 a 12 septos. Os conidióforos podem conter de 1 a vários conídios em sua extremidade sendo suas dimensões as seguintes: comprimento de 90 a 230 µm e largura de 5 a 7 µm. Emergem dos estômatos em grupos ou individualmente,

e são de coloração marrom-escura com tonalidade olivácea .

Segundo Menezes (1976), o tamanho dos conídios em H. carbonum é uma característica influenciada pelo substrato onde se desenvolve o fungo, sendo que o processo de esporulação do isolado com o qual trabalhou foi influenciado por fatores tais como:fontes de nitrogênio, temperatura e período de leitura.

As lesões induzidas por H. carbonum são ovais e circulares podendo apresentar zonas concêntricas com centro marrom-claro, bordos de coloração marrom e medindo de 5 a 20 mm de comprimento (raça 1). Pode também ocorrer a presença de lesões alongadas, irregulares, de coloração marrom-chocolate e medindo de 3 a 20 mm de comprimento (raça 2). Para as duas raças em infecções recentes, as lesões apresentam-se pequenas, verde-palhas ou amareladas (Ullstrup, 1944).

Segundo Ullstrup (1944), lesões provocadas por H. carbonum formam-se 8 dias após a inoculação, diferentemente do que acontece com H. maydis, cujas lesões se formam 4-5 dias após a inoculação ou do que acontece com H. turcicum que se formam 10-12 dias após a inoculação (Hooker et alii, 1973).

Foi Ullstrup (1944) o primeiro a descrever a mancha foliar causada pelo fungo H. carbonum em milho. No entanto, a ocorrência do patógeno havia sido constatada anteriormente por volta de 1938 e 1939 pelo mesmo autor (Ullstrup, 1941a). Por ocasião desta primeira constatação, o patógeno foi confundido com H. maydis e somente em 1944, após estudos comparativos, foi possível separar as duas espécies (Ullstrup, 1944). Mais tarde, Nelson (1959) obteve o estágio perfeito do fungo ao realizar cruzamentos entre isolados compatíveis e descreveu-o como sendo Cochliobolus carbonum Nelson.

Baseando-se nas diferenças observadas quanto à manifestação dos sintomas em plantas de milho, Ullstrup (1941a; 1944; 1954a e 1954b) conseguiu separar 2 raças de H. carbonum as quais chamou de raça 1 e raça 2. Mais recentemente, Nelson et alii (1973) descreveram uma nova raça que chamou de raça 3. A caracterização e descrição da raça 3 foram baseadas na morfologia dos conídios e virulência com relação a linhagens de milho.

A descrição dos conídios das raças 1 e 2 foi feita por Ullstrup (1944) da seguinte maneira: a raça 1 apresenta variações no comprimento e largura dos conídios, respectivamente de 24,8 a 99,1 µm e 7,1 a 17,7 µm, sendo as médias de 61,2 x 13,0 µm. O número de septos variou de 2 a 12 sendo a média de 6,8. A raça 2 apresenta os conídios com comprimento médio 64,0 µm e largura média de 13,5 µm. Para a raça 3 as variações observadas para comprimento e largura dos conídios foram respectivamente de 24,8 a 102,7 µm e de 10,6 a 17,7 µm. Quanto ao número de septos houve uma variação de 3 a 12 sendo a média de 7,2. A diferença observada entre os comprimentos dos conídios das raças 1 e 2 não mostrou significância estatística. A raça 3 foi descrita por Nelson et alii (1973) segundo características dos conídios da seguinte maneira: conídios de coloração olivácea e oliváceo-escura; retos, a moderadamente curvos. Apresentam uma variação no comprimento de 40,16 a 107,52 µm sendo a média de 70,28 µm. A largura dos mesmos varia de 9,18 a 18,16 µm sendo a média de 13,26 µm. Segundo os mesmos autores, a curvatura dos conídios da raça 3 é mais pronunciada do que a normalmente verificada para H. carbonum, mostrando-se intermediária entre H. carbonum e H. maydis.

Segundo Ullstrup (1941a), as raças 1 e 2 embora não possam ser distinguíveis morfologicamente podem ser reconhecíveis através dos sintomas produzidos e da patogenicidade. A raça 1 foi patogênica apenas à

linhagem Pr, com produção de sintomas típicos. Por outro lado, a raça 2 que foi patogênica a um maior número de linhagens, causou menos danos à linhagem Pr do que a raça 1. Igualmente foi menos patogênica aos seus hospedeiros do que a raça 1 à linhagem Pr.

Os sintomas induzidos pela raça 1 apresentam-se inicialmente como manchas pequenas de coloração verde-pálida ou clorótica que com a evolução tornam-se necróticas. Os tecidos da parte central morrem, adquirindo uma coloração palha, após o desenvolvimento da lesão.

Estas lesões apresentam-se com tamanhos variáveis, podendo atingir até 20 mm de comprimento por 5 mm de largura ao alcançarem completo desenvolvimento. São oblongas, sugerindo que o desenvolvimento lateral das mesmas seja impedido pelas nervuras (Ullstrup, 1944). Nas linhagens resistentes, os sintomas descritos por Ullstrup (1941a e 1954b), para a raça 1, são pontos de coloração verde amarelada, medindo cerca de 1,0 mm de diâmetro, que não aumentam de tamanho.

Os sintomas provocados pela raça 2, segundo Ullstrup (1944 e 1945b), caracterizam-se pela formação de lesões alongadas, irregulares, de coloração marrom chocolate, coalescente em alguns casos.

Robert (1962) e Patel e Bain (1973) apresentam relações de novos hospedeiros para as raças 1 e 2 de H. carbonum, sendo o espectro de hospedeiros da raça 2 maior do que o da 3, segundo o primeiro autor.

Segundo Nelson et alii (1973), a raça 3 induz a formação de lesões lineares, internervais, de tamanho variável, de coloração marrom-acinzentada, circundada por um bordo marrom claro e marrom-escuro.

Quanto à natureza da herança da resistência, é monogênica dominante para a raça 1 (Ullstrup, 1941a) e provavelmente poligênica para raça 2 (Ullstrup, 1944 e Ullstrup, 1954a).

Inicialmente, Ullstrup (1941a) observou que com exceção da linhagem Pr todas as linhagens e híbridos que testou foram altamente resistentes à raça 1. A partir desta observação, o mesmo autor (1941b) desenvolveu estudos sobre herança da suscetibilidade nos híbridos F_2 e F_3, resultantes de cruzamentos e retrocruzamentos. Baseando-se nos resultados destes trabalhos concluiu que suscetibilidade à raça 1 de H. carbonum é condicionada por um par de genes, sugerindo que os mesmos fossem designados por Hm e hm.

Ao observar o comportamento de algumas linhagens e híbridos simples e duplos de milho quando inoculados com as raças 1 e 2 de H. carbonum, Ullstrup (1944) verificou que a reação das plantas variou de suscetível, moderadamente suscetível, moderadamente resistente e resistente. As linhagens K-61, K 44 e Pr mostraram-se suscetíveis à raça 1 e moderadamente suscetíveis à raça 2. Por outro lado, as linhagens Pr-1 e 187-2, que foram resistentes à raça 1, comportaram-se, respectivamente, como suscetível e moderadamente suscetível à raça 2. Os híbridos simples resultantes dos cruzamentos K61 x Pr e K61 x K44 foram suscetíveis à raça 1 e moderadamente suscetíveis à raça 2. Deste trabalho resultaram linhagens suscetíveis e resistentes a H. carbonum que são empregadas como diferenciais para as duas raças do patógeno.

Vários trabalhos foram conduzidos por Hooker (1974a, 1974b, 1974c e 1975) para determinar fontes de resistência a H. carbonum. Os resultados que obteve mostraram uma variação entre as linhagens e entre híbridos com relação ao patógeno. O tamanho médio das lesões foi variável

entre linhagens suscetíveis e resistentes, havendo diferença de tamanho para as lesões mesmo sobre uma mesma folha. De um modo geral, as lesões apresentadas pelas linhagens e híbridos nos experimentos de campo foram maiores do que aquelas apresentadas em casa de vegetação. Quando o mesmo autor (Hooker, 1975) estudou o comportamento de híbridos simples e duplos de milho, inoculados em condições de campo, observou que os mesmos expressaram mais resistência quando atingiam o estágio adulto do que quando no estágio de seedlings.

Blanco et alii (1974), ao estudarem a composição racial de H. maydis e H. carbonum em híbridos de citoplasma normal, observaram que dos 141 isolados de H. carbonum obtidos a partir de tecidos de milho, 124 foram da raça 2, 16 da raça 3 e apenas 1 da raça 1.

Menezes (1976), usando dois isolados de H. carbonum os quais denominou de "7L" e "Jac", verificou que as linhagens testadas apresentaram reações diferentes aos dois isolados e admitiu a possibilidade do isolado "7L" corresponder à raça 1 de H. carbonum e o isolado "Jac" à um outro biótipo do patógeno.

Com relação às perdas na produção por plantas afetadas por H. carbonum e outras espécies de Helminthosporium, Ullstrup e Miles (1957), através de epifitotias simuladas em trabalhos de campo, verificaram que o híbrido K61 x Pr1, que é resistente ao patógeno, produziu 5.552,55 kg/ha, enquanto o híbrido suscetível k61 x Pr produziu somente 1.122,32 kg/ha. Na ausência do patógeno os dois híbridos tiveram produções semelhantes. Referências a perdas na produção causadas por H. carbonum já haviam sido feitas por Hooker (1974b) e por Fisher et alii (1976). Hooker, 1974b, verificou que linhagens que se mostraram muito suscetíveis ao patógeno sofreram infecção nas espigas e no colmo, com diminuição do tamanho das sementes. Por outro lado, Fisher et alii (1976), ao estudarem as reações de

plantas de milho a infecções causadas por 4 espécies de Helminthosporium e os efeitos na produção, verificaram que H. carbonum pode causar perdas significantes na produção de híbridos suscetíveis.

Estudos de esporulação em tecidos com lesões, destacados, foram relatados para H. turcicum por Hilu e Hooker (1963), Hooker et alii (1964), Kinsey (1971), Kinsey e Hooker (1973) e Pereira (1976) e para H. maydis por Craig e Daniel-Kalio (1968), Smith, Hooker e Lim (1970) e Hooker et alii (1970), não tendo sido encontrado nenhum relato com relação a H. carbonum.

O tamanho das lesões induzidas por H. carbonum em milho pode variar numa mesma folha, entre plantas de um mesmo híbrido ou entre híbridos (Hooker, 1974c). Por outro lado, Menezes (1976) observou que reisolados obtidos a partir de lesões grandes induzidas pelo isolado "7L" de H. carbonum tenderam a produzir lesões maiores quando comparados com reisolados provenientes de lesões pequenas.

As diferenças na patogenicidade de dois grupos de isolados com relação ao mesmo hospedeiro resultam de variações na constituição do fungo em relação à especificidade do hospedeiro (Robert e Sprague, 1960), sendo que pouco se sabe sobre a população de biótipos existentes dentro de uma espécie de um determinado patógeno (Stakman e Christensen, 1960).

A influência do hospedeiro sobre a patogenicidade de fungos do gênero Helminthosporium foi estudada em H. sativum (Castro, 1976) e em H. turcicum (Robert e Sprague, 1960; Kinsey e Hooker, 1973).

Robert e Sprague (1960) observaram que alguns isolados de H. turcicum foram mais patogênicos à linhagem da qual foram obtidos quan-

do comparada com outras, enquanto Castro (1976) afirma que a passagem de H. sativum sobre diferentes espécies hospedeiras induz uma seleção direcional, alterando a patogenicidade do fungo.

O tempo requerido para H. turcicum esporular e o número de esporos formados pelo patógeno não alterou significativamente quando foi aumentado o número de passagens seriadas pelo hospedeiro, (Kinsey e Hooker 1973).

Em alguns casos, a alteração na patogenicidade de um determinado patógeno tem sido atribuída a um tipo de "adaptação" sendo que o conceito de "adaptação" em microorganismos varia entre os autores.

Stakman e Harrar (1957) definem adaptação como sendo a capacidade de um biótipo em adquirir e transmitir a habilidade de fazer alguma coisa que nunca pôde fazer originariamente ou que nunca pôde fazer tão bem. Dentro deste conceito, eles afirmam que não existem boas evidências quanto à ocorrência de mudanças adaptativas para parasitismo dentro de linhagens de fungos geneticamente homogêneos. No entanto admitem a existência para adaptação com referência a produtos químicos. Afirmam que embora não se possa dizer categoricamente que fungos parasitas nunca podem adaptar-se a plantas de variedades resistentes, há evidências convincentes de que uma aparente adaptação às vezes é devida ao efeito seletivo das variedades de uma cultura numa população heterogênea de biótipos.

Van der Plank (1975) considerou como um tipo de adaptação para virulência o aparecimento de raças virulentas de um patógeno determinado pela introdução e cultivo em larga escala de hospedeiros com gene para resistência. A introdução e cultivo em larga escala de hospedeiros com o gene para resistência exerceriam uma pressão de seleção em direção ao gene

para virulência. Sussman (1957), ao referir-se à adaptação em fungos de um modo geral, faz referência a adaptações genotípicas as quais se processam geralmente dentro de longos períodos e a adaptação fenotípicas as quais podem ser processar dentro de uma ou de várias gerações.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Isolamento do Patógeno e sua Preservação

O patógeno foi isolado a partir de lesões foliares. Os tecidos foliares com lesões foram previamente desinfectados superficialmente e mantidos em câmara úmida durante 48 horas. Esta câmara úmida foi preparada colocando-se papel de filtro em placas de Petri às quais, após esterilização, foram adicionados 2 ml de água destilada esterilizada. A desinfecção superficial dos fragmentos de tecido com lesões foi feita através da imersão durante 1 minuto, em solução aquosa de hipoclorito de Ca, contendo 5% de cloro ativo, diluída na proporção de uma parte do produto para três partes de água.

Com o auxílio de um estereoscópio e de uma agulha de laboratório, os conídios foram transferidos, assepticamente, da câmara úmida para placas de Petri contendo meio de lactose-caseina hidrolisada, LCH, (Malca e Ullstrup, 1962), ou para Erlenmeyers contendo meio de grãos de sorgo esterilizados.

O meio de grãos de sorgo foi preparado adicionando-se água destilada a um volume igual ao de grãos secos de sorgo, contido em Erlen - meyers. O conjunto assim obtido foi esterilizado a 1,5 atmosfera por 2 vezes durante 30 minutos.

A preservação do patógeno foi feita em tecido foliar de milho, destacado de plantas inoculadas e que apresentaram reação de suscetibilidade. As folhas com lesões foram secadas entre folhas de jornal sendo depois acondicionadas em sacos de papel e conservadas a temperatura de 10ºC aproximadamente.

4.2. Isolados Utilizados

Foi utilizado no presente trabalho o isolado "7L" já ante - riormente utilizado por Menezes (1976).

4.3. Obtenção da Suspensão de Conídios

O patógeno foi cultivado durante 15 dias aproximadamente em placas de Petri contendo meio LCH sob condições de temperatura de 25-28ºC, na ausência de luz.

O preparo da suspensão de conídios foi realizado adicionando-se 10 ml de água estéril a cada placa de Petri contendo o meio de cultura onde o fungo esporulou. Um pincel de pelos de camelo foi usado para facilitar a liberação dos conídios. A suspensão de esporos assim conseguida foi passada através de uma camada dupla de gaze, a fim de que fossem eliminados fragmentos de meio de cultura e de micélio da suspensão.

A padronização da suspensão de conídios foi obtida contando-se o número de esporos com o auxílio do hemocitômetro, após o que ajustava-se para a concentração desejada. À suspensão assim obtida adicionou-se Tween-80 na proporção de 1 gota para cada 100 ml da suspensão de conídios a ser usada como inóculo.

4.4. Testes de Patogenicidade

Experimento de campo:

O experimento de campo foi realizado, inoculando-se as linhagens e híbridos F_1 de milho quando atingiram o estágio de desenvolvimento correspondente a 5 - 6 folhas. A inoculação foi feita colocando-se 3-4 grãos de sorgo, previamente esterilizados e colonizados pelo patógeno, no cartucho de cada planta. Cada parcela foi constituída de uma fileira com 10 plantas espaçadas de 0,20 m entre si, havendo 3 repetições para cada parcela, sendo o delineamento em blocos ao acaso.

A avaliação dos sintomas foi feita aos 14 dias após a inoculação, tomando-se como base principalmente o tipo e o tamanho médio das lesões. As medidas do tamanho das lesões foram feitas com o auxílio de um paquímetro, medindo-se o comprimento de 60 lesões tomadas ao acaso em cada folha.

Experimentos em casa-de-vegetação

Para os testes de patogenicidade em casa-de-vegetação, as plantas de milho foram cultivadas em vasos de alumínio contendo solo previamente esterilizado. As plantas foram inoculadas quando atingiram o es

tágio de desenvolvimento correspondente a 4-5 folhas. As inoculações foram feitas pulverizando-se as plantas com uma suspensão de conídios de concentração de $3x10^3$ conídios/ml e após a inoculação as plantas foram mantidas em câmara úmida por um período de 16 horas. Após esse período, os vasos com as plantas foram transferidos da câmara úmida para cima dos balcões da casa de vegetação onde permaneceram por 12-14 dias até que foram feitas as leituras finais.

Em todos os testes, os vasos foram distribuídos em experimentos inteiramente casualizados sendo que em todos eles foram incluídos vasos testemunhas cujas plantas não foram inoculadas.

As avaliações das reações das plantas ao patógeno foram realizadas aos 12-13 dias após a inoculação. As medidas dos tamanhos das lesões foram feitas com o auxílio de um paquímetro, medindo-se o comprimento das lesões da 4ª folha, tomando-se 30 medidas por parcela.

Tanto no experimento de campo como no de casa de vegetação, as plantas foram agrupadas em resistentes (R), suscetíveis (S) e plantas de resistência intermediária (RI) conforme descrição abaixo:

R - Plantas com pontos cloróticos e lesões cloróticas ou clorótico necróticas, lesões necróticas em pequeno número e pequenas, de coloração pardo escuras e de formas indefinidas.

RI - Lesões cloróticas e clorótico necróticas, maior número de lesões necróticas, sendo estas de coloração parda, mais claras e maiores que aquelas apresentadas pelo progenitor resistente. Às vezes apresentam um pequeno centro de coloração palha. Bordos indefinidos e às vezes pigmentados de marrom.

S - Lesões necróticas maiores de bordos bem definidos, coloração palha, ausência de pontos ou lesões cloróticas ou clorótico-necróticas. As lesões são de dimensões maiores, resultantes do desenvolvimento mais rápido das lesões necróticas iniciais.

4.5. Estudo da Esporulação

Preparo do material e indução da esporulação: Secções foliares de 4 cms^2, com lesões, de plantas inoculadas no campo ou em casa de vegetação, foram superficialmente desinfectadas com hipoclorito de Ca (solução diluída em água na proporção de 1 parte do produto comercial, contendo 5% de cloro ativo, para 3 partes de água) e transferidas para câmara úmida (caixa de Petri forrada com papel de filtro umedecido com 2 ml de água) onde permaneceram, sob condições de 25-28ºC de incubadora, até a época da avaliação.

Avaliação da esporulação: Em intervalos de 24 horas a partir da colocação dos tecidos em câmara úmida, foram feitas as observações para avaliação do início e a intensidade de esporulação, seguindo-se o seguinte critério:

(o) - ausência de conidióforos ou conídios
(-) - presença de conidióforos
(+) - início de esporulação
(++) - esporulação pequena a moderada nos tecidos
(+++) - esporulação abundante nos tecidos
(++++) - esporulação abundante nos tecidos e avançando no papel de filtro.

4.6. Obtenção das Linhagens e Híbridos

As linhagens S5 de milho, padrões para resistência e susceti bilidade, foram obtidas através de auto-fecundações das plantas S4 das linhagens que se apresentaram como homozigotas para resistência ou suscetibi lidade ao patógeno.

Os híbridos F_1, F_2 e retrocruzementos foram obtidos a partir de cruzamentos da linhagem 20 A-2, resistente, com as linhagens 929-B5 e 316-B1, ambas suscetíveis, e da linhagem 483-B4, resistente, com a linha - gem 929-B5.

4.7. Experimentos Realizados

4.7.1. Reações de linhagens e híbridos F_1 de milho a *H. carbonum* em condições de campo.

Neste experimento foram testadas as reações ao patógeno, em condições de campo, das linhagens 20A-2, 483-B4,(resistentes), 929-B5, e 316-B1 (suscetíveis), e os híbridos F_1 resultantes do cruzamento entre as mesmas.

O semeio foi feito no dia 8 de março de 1977, deixando-se , após a germinação, um total de 10 plantas para cada fileira de 2 metros (parcela). Foi utilizado um delineamento de blocos ao acaso com 3 repeti ções.

A inoculação foi feita no dia 30 de março sendo as leituras efetuadas no dia 13 de abril.

4.7.2. Reações de linhagens e híbridos F_1 de milho a H. carbonum em condições de casa de vegetação.

Neste experimento foram utilizadas as linhagens 20A-2, 483-B4, resistentes, 316-B1 e 929-B5, suscetíveis e os híbridos F_1 resultantes dos cruzamentos entre os mesmos.

Os vasos foram distribuidos em experimento inteiramente casualizado com 3 repetições, sendo desenvolvidas 5 plantas em cada vaso.

Este experimento foi conduzido durante os meses de maio e junho tendo a temperatura da casa de vegetação oscilado entre 15,5 e 32,0ºC.

A avaliação dos sintomas foi feita aos 12-13 dias após a inoculação.

4.7.3. Reações de híbridos F_1, F_2 e retrocruzamentos de milho a H. carbonum, em condições de casa de vegetação.

Nestes experimentos foram testados os híbridos F_1 (excluindo-se os cruzamentos recíprocos), F_2 e retrocruzamentos obtidos a partir do cruzamento das linhagens resistentes 20A-2 e 483-B4 com as linhagens suscetíveis 929-B5 e 316-B1.

Para estes experimentos, as distribuições dos vasos com os hospedeiros obedeceram a um delineamento inteiramente casualizado, com 4 repetições sendo que em cada vaso foram desenvolvidas 5 plantas.

Os experimentos foram conduzidos durante os meses de agosto a outubro, tendo a temperatura da casa de vegetação oscilado entre 16,5 e 32,0ºC.

4.7.4. Esporulação de H. carbonum em segmentos de tecido foliar com lesões, destacados em diferentes épocas de plantas inoculadas em campo.

Nestes experimentos foram utilizados tecidos das linhagens 20A-2, 483-B4, resistentes, 316-B1 e 929-B5, suscetíveis, cultivadas e inoculadas em condições de campo. Os tecidos foram coletados aos 14, 22 e 30 dias após a inoculação, sendo utilizadas duas seções de tecido por placa de Petri, num total de 3 placas por tratamento.

4.7.5. Esporulação de H. carbonum em segmentos de tecido foliar destacados de híbridos F_1, F_2 e retrocruzamentos desenvolvidos e inoculados em casa de vegetação.

Nestes experimentos foram utilizados tecidos híbridos F_1, F_2 e retrocruzamentos obtidos a partir de cruzamentos da linhagem 20A-2, resistente, com as linhagens suscetíveis 929-B5 e 316-B1 e de cruzamentos da linhagem 483-B4, resistente, com a linhagem 929-B5.

4.7.6. Patogenicidade em linhagem suscetível, de reisolados obtidos em lesões de diferentes tamanhos após passagem seriada em plantas resistentes e suscetíveis

Para execução deste experimento, foram feitos reisolamentos do patógeno a partir de lesões grandes e pequenas da linhagem 929-B5. Os reisolados foram denominados de G_1, G_2, G_3, G_4, G_5, G_7 e G_8 (originários de lesões grandes) e P_1, P_2, P_4, P_5, P_9, P_{10} e P_{11} (originários de lesões pequenas).

Cada reisolado sofreu passagem seriada, em separado, nas li-

nhagens 929-B5 (suscetível) e 20A-2 (resistente).

O delineamento empregado foi o de inteiramente casualizado , com 3 repetições, havendo 5 plantas em cada vaso.

Este experimento foi conduzido durante os meses de fevereiro a junho de 1977.

As medidas dos tamanhos das lesões foram feitas, após a 4ª passagem do patógeno pelos hospedeiros, aos 12 dias após a inoculação, tomando-se o comprimento das lesões na 4ª e 5ª folhas.

5. RESULTADOS

5.1. Reações de Linhagens e Híbridos F_1 de Milho a *H. carbonum* em Condições de Campo

As reações a *H. carbonum* nas linhagens 20A-2, 483-B4, resistentes, 316-B1 e 929-135 (suscetíveis) e dos híbridos F_1 resultantes de cruzamentos entre as mesmas são apresentadas na Tabela 1.

As linhagens e híbridos resistentes (R) caracterizaram-se por apresentarem grande número de pontos e lesões cloróticas e lesões clorótico-necróticas. Lesões necróticas, quando presentes, caracterizaram-se por serem pequenas, em pequeno número, sempre de coloração parda e bordos mais escuros, provenientes do desenvolvimento muito lento dos pontos cloróticos ou lesões clorótico-necróticas iniciais.

Nos híbridos F_1 resultantes do cruzamento entre uma linhagem resistente e uma suscetível havia maior número de lesões necróticas entre os pontos e lesões cloróticas e lesões clorótico-necróticas. Estas lesões necróticas eram de coloração parda, com bordos pouco definidos e em maior número que no caso das plantas resistentes. Eram de tamanhos médios maiores que o tamanho médio das lesões do progenitor resistente e me-

nores que daquelas apresentadas pelo progenitor suscetível. Este tipo de reação foi chamado de "resistência intermediária" (RI).

Nas linhagens e híbridos suscetíveis (S), as lesões do tipo necróticas eram maiores, de coloração palha, de bordos bem definidos, havendo frequentemente coalescência entre as mesmas originando lesões de dimensões maiores. As folhas às vezes apresentavam-se com ass extremidades ou extensões dos bordos totalmente necrosados.

A análise de variância para tamanho médio das lesões, constante da Tabela I do Apêndice, apresentou um efeito significativo ao nível de 1% de probabilidade entre os tratamentos (linhagens e híbridos).

O teste de Tukey, com $\Delta = 1,57$ ao nível de 5% de probabilidade, revelou diferença significativa entre a média dos comprimentos das lesões da linhagem 929-B5 com relação às demais. As médias para a linhagem 316-B1 e para o híbrido 316-B1 X 929-B5 não diferiram significativamente entre si, mas foram maiores de maneira significativa que as médias correspondentes aos demais híbridos e linhagens e menores que a média de linhagem 20A-2. Da mesma maneira as médias para os híbridos heterozigotos (inclusive os cruzamentos recíprocos), não diferiram de maneira significativa entre si, mas foram significativamente menores que as médias das linhagens 929-B5 e 316-B1 e do híbrido 929-B5 X 316-B1 e sendo maiores que a média da linhagem 20A-2.

Os híbridos resultantes de combinações recíprocas não apresentaram diferença quanto ao tipo e tamanho médio da lesão, não evidenciando, portanto, efeito citoplasmático.

Tabela 1. Reações de linhagens e híbridos F_1 de milho a H. carbonum em condições de campo.

Híbridos ou Linhagens	Reações	Tamanhos médios das lesões (comprimentos em mm ***) Médias**	Amplitudes das médias
929-B5	S	7,21 a	6,17 - 8,20
316-B1	S	5,16 b	4,94 - 5,54
929-B5x316-B1	S	4,56 b	4,00 - 4,87
483-B4x929-B5	R1	2,94 c	2,27 - 3,34
929-B5x483-B4*	R1	2,71 c	1,90 - 3,42
20A-2x929-B5	R1	2,50 cd	1,91 - 2,82
483-B4	R	2,34 cd	1,71 - 2,89
929-B5x20A-2*	R1	2,20 cd	2,08 - 2,28
20A-2x316-B1	R1	1,86 cd	1,65 - 2,18
20A-2x483-B4	R	1,43 cd	1,25 - 1,65
20A-2	R	1,01 d	0,70 - 1,37

* cruzamentos recíprocos nos quais a linhagem 929-B5 forneceu pólen;
** valores acompanhados de letras iguais não diferiram entre si segundo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade;
*** cada valor representa média de 60 lesões.

5.2. Reações de Linhagens e Híbridos F1 de Milho a H. carbonum em condições de casa de vegetação

As reações a H. carbonum nas linhagens 20A-2, 483-B4 (resistentes), 316-B1 e 929-B5 (suscetíveis) e dos híbridos F_1 resultantes de cruzamentos entre as mesmas são apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2. Reações de linhagens e de híbridos F_1 de milho a H. carbonum, em condições de casa de vegetação.

Híbridos ou Linhagens	Reações	Tamanhos médios das lesões (comprimento em mm***)	
		Médias**	Amplitudes das médias
929-B5	S	5,77 a	4,83 - 6,24
929-B5x316-B1	S	5,33 a	4,51 - 5,79
316-B1	S	5,13 a	4,09 - 6,30
483-B4x316-B1	R1	3,01 b	2,79 - 3,18
929-B5x483-B4*	R1	2,96 b	2,68 - 3,31
483-B4x929-B5	R1	2,82 b	2,48 - 3,12
316-B1x483-B4	R1	2,67 b c	2,28 - 2,87
929-B5-20A-2*	R1	2,38 b c d	2,14 - 2,67
483-B4	R	2,23 b c d	1,62 - 2,58
316-B1x20A-2*	R1	2,10 b c d	2,01 - 2,16
20A-2x929-B5	R1	2,09 b c d	1,91 - 2,38
20A-2x316-B1	R1	1,98 b c d	1,81 - 2,21
20A-2x483-B4	R	1,27 c d	1,15 - 1,37
20A-2	R	1,08 d	0,91 - 1,24

* cruzamentos recíprocos nos quais as linhagens 929-B5 e 316-B1 forneceram pólen;

** Os valores acompanhados da mesma letra não diferiram entre si pelo teste de Tuckey ao nível de 5% de probabilidade.

*** Cada valor representa média de 30 lesões.

Os sintomas apresentados pelas linhagens e híbridos foram idênticos àqueles apresentados em condições de campo, sendo que em casa de vegetação as lesões foram de tipos mais uniformes que aquelas observadas em campo.

O híbrido F_1 20A-2 x 483-B4 comportou-se como resistente, o híbrido 929-B5 x 316-B1 como suscetível e os demais híbridos F_1 resultantes do cruzamento de uma linhagem resistente com uma suscetível apresentaram resistência intermediária (RI) com relação aos progenitores.

Decorridas 24 horas após a inoculação, podia-se observar pontos e riscas cloróticas em todas as plantas sendo que nas suscetíveis a formação de lesões necróticas se iniciava dentro de 3-4 dias após a inoculação, apresentando forma definida dentro de 10-12 dias após a inoculação.

A análise de variância, constante da Tabela II do Apêndice, apresentou um efeito significativo ao nível de 1% de probabilidade para tamanho médio das lesões.

O teste de Tukey, com um Δ = 1,44 ao nível de 5% de probabilidade, mostrou que não houve diferença significativa entre as médias das linhagens 929-B5, 316-B1 e o híbrido F_1 929-B5 x 316-B1, as quais diferiram significativamente das médias dos demais híbridos e linhagens. Não houve diferença significativa entre as médias dos híbridos 483-B4 x 316-B1, 929-B5 x 483-B4 e 483-B4 x 929-B5 (sendo os dois últimos resultantes de cruzamentos recíprocos), as quais foram maiores de maneira significativa daquelas correspondentes ao híbrido 20A-2x483-B4 e à linhagem 20A-2 e menores que aquelas correspondentes às linhagens 929-B5 e 316-B1 e ao híbrido 929-B5 x 316-B1. A linhagem 20A-2 apresentou a menor média para tamanho de lesões embora não tenha diferido significativamente da linhagem 483-B4 e dos híbridos em cuja composição participou.

Os sintomas observados nos híbridos resultantes de cruzamentos recíprocos não evidenciaram efeito citoplasmático quanto ao tamanho médio ou tipo de lesão.

5.3. Reações de Híbridos F_1, F_2 e Retrocruzamentos de Milho a H. carbonum

Os resultados do estudo da segregação dos híbridos F_1, F_2, e retrocruzamentos resultantes dos cruzamentos das linhagens 20A-2 e 483-B4, (resistentes), com as linhagens 929-B5 e 316-B1, (suscetíveis) são apresentados nas Tabelas 3, 4 e 5.

As figuras 1, 2, 3 e 4 mostram os tipos de reações apresentadas pelas linhagens 20A-2, 483-B4 e 929-B5, pelos respectivos híbridos F_1 bem como os tipos de segregantes encontrados nas gerações F_2.

Os híbridos F_1, resultantes dos cruzamentos entre as linhagens 20A-2 e 929-B5, entre as linhagens 20A-2 e 316-B1 e entre 483-B4 e 929-B5, apresentaram uma reação do tipo "intermediária" quando comparadas com as reações dos pais resistentes e suscetíveis, como foi descrito no item 4.4., sendo que, as lesões tenderam a ser menores nos híbridos F_1 cujo progenitor resistente foi a linhagem 20A-2.

Os retrocruzamentos dos híbridos F_1 para os progenitores resistentes apresentaram uma segregação de 1:1, de plantas resistentes : plantas de resistência intermediária. Os retrocruzamentos dos híbridos F_1 para os progenitores suscetíveis apresentaram uma segregação de 1:1, de plantas suscetíveis : plantas de resistência intermediária. Quanto às gerações F_2 resultantes da autofecundação de plantas F_1 apresentaram uma segregação na relação 1:2:1, correspondente a plantas resistentes : plantas de resistência intermediária : plantas suscetíveis.

Os valores de X^2 encontrados mostraram que os desvios entre os valores observados e esperados não foram significativos, podendo

ser considerados devido ao acaso. Neste caso sob o ponto de vista genético pode-se concluir que as proporções encontradas são adequadas para explicar os resultados dos experimentos.

As reações das plantas F_1 e as segregações observadas sugerem que os genes para resistência nas linhagens 20A-2 e 483-B4 apresentaram uma dominância parcial sendo que em cada caso a resistência é controlada por um par de genes.

Observou-se um certo atraso no desenvolvimento das lesões e consequente definição dos sintomas para suscetibilidade nos segregantes F_2 resultantes de autofecundações dos híbridos F_1 20A-2 x 929-B5 e 483-B4 x 929-B5, quando os mesmos foram comparados com o progenitor suscetível. Por outro lado, observou-se um retardamento no desenvolvimento das lesões do tipo "resistência intermediária" nos segregantes resultantes do retrocruzamento dos híbridos F_1 com o progenitor resistente quando comparados com os híbridos F_1 ou com os segregantes de "resistência intermediária" provenientes do retrocruzamento destes com o progenitor suscetível.

Tabela 3. Reações a *H. carbonum* em híbridos F1, F2 e retrocruzamentos resultantes do cruzamento entre as linhagens 20A-2 (resistente) e 929-B5 (suscetível).

Linhagem ou Híbrido	Reações das plantas (a)			Total	X^2 (c)	P
	R	RI	S			
20A-2	50 (b)	0	0	50		
929-B5	0	0	50	50		
20A-2x929-B5, F1	0	102	0	102		
20A-2x929-B5, F2	32	77	28	137	2,34	0,30-0,50
(20A-2x929-B5)x20A-2	68	70	0	138	0,02	0,80-0,90
(20A-2x929-B5)x929-B5	0	71	72	143	0,06	0,80-0,90

(a) R = resistente; RI = resistência intermediária; S = suscetível
(b) número de plantas nas respectivas classes;
(c) proporções esperadas de 1:2:1 (resistentes : resistência intermediária: suscetíveis) no F2; 1:1 (resistentes : resistência intermediária) no retrocruzamento para o progenitor resistente; 1:1 (suscetíveis : resistência intermediária) no retrocruzamento para o progenitor suscetível.

Tabela 4. Reações a H. carbonum em híbridos F1, F2 e retrocruzamentos resultantes do cruzamento entre as linhagens 20A-2 (resistente) e 316-B1 (suscetível).

Linhagem ou Híbrido	Reações das plantas (a)			Total	$X^{2(c)}$	P
	R	RI	S			
20A-2	46[b]	0	0	46		
316-B1	0	0	46	46		
20A-2x316-B1, F1	0	125	0	125		
20A-2x316-B1, F2	39	76	29	144	1,83	0,30-0,50
(20A-2x316-B1)x20A-2	63	60	0	123	0,08	0,70-0,80
(20A-2x316-B1)x316-B1	0	75	69	144	0,24	0,50-0,70

(a) R = resistente; RI = resistência intermediária; S = suscetível
(b) número de plantas nas respectivas classes;
(c) proporções esperadas de 1:2:1 (resistentes: resistência intermediária: suscetíveis) no F2; 1:1 (resistente : resistência intermediária) no retrocruzamento para progenitor resistente; 1:1 (suscetíveis : resistência intermediária) no retrocruzamento para progenitor suscetível.

Tabela 5. Reações a *H. carbonum* em híbridos F_1, F_2 e retrocruzamento resultantes do cruzamento entre as linhagens 483-B4 (resistente) e 929-B5 (suscetível).

Linhagem ou Híbrido	Reações das plantas (a)			Total	$X^{2(c)}$	P
	R	RI	S			
483-B4	58[b]	0	0	58		
929-B5	0	0	57	57		
483-B4x929-B5, F1	0	71	0	71		
483-B4x929-B5, F2	26	72	27	125	2,90	0,20-0,30
(483-B4x929-B5)x483-B4	66	56	0	122	0,82	0,30-0,50
(483-B4x929-B5)x929-B5	0	64	62	126	0,03	0,80-0,90

(a) R = resistente; RI = resistência intermediária; S = suscetível.
(b) número de plantas nas respectivas classes;
(c) proporções esperadas de 1:2:1 (resistentes: resistência intermediária: suscetíveis) no F2; 1:1 (resistentes: resistência intermediária) no retrocruzamento para progenitor resistente; 1:1 (suscetíveis: resistência intermediária) no retrocruzamento para progenitor suscetível.

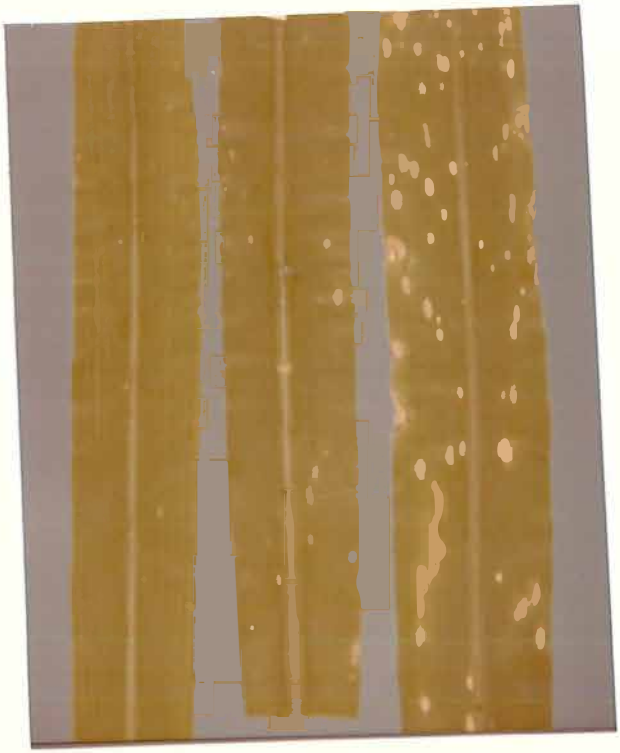

Fig. 1. Reações a H. carbonum de linhagens e híbrido F1 de milho. Da esquerda para a direita: progenitor resistente 20A-2; híbrido F1, de"resistência intermediária"; e progenitor suscetível, 929-B5.

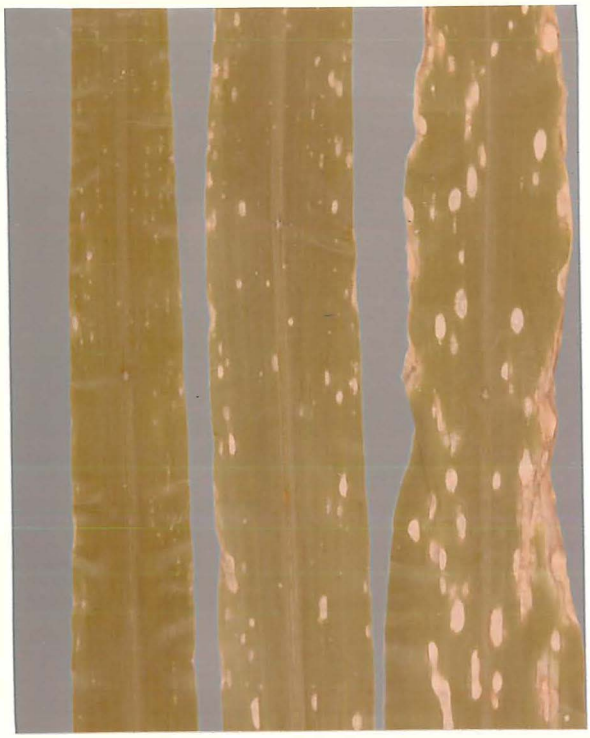

Fig. 2. Reações a H. carbonum de linhagens e hibrido F1 de milho. Da esquerda para a direita, progenitor resistente, 483-B4, híbrido F1, de "resistência intermediária"; progenitor suscetível 929-B5.

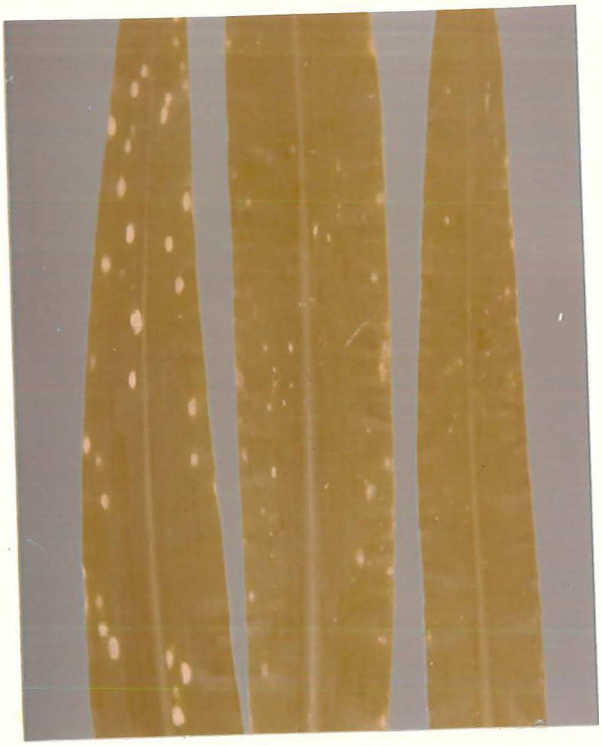

Fig. 3. Reações a H. carbonum de segregantes (20A-2x929-B5), F2. Da esquerda para a direita, reação do tipo suscetível (S) e "Resistência Intermediária" (RI) e resistente (R).

Fig. 4. Reações a H. carbonum de segregantes (483-B4x929-B5) F2. Da esquerda para a direita: reação do tipo suscetível (S), "resistência intermediária" (RI), e resistente (R).

5.4. Esporulação de *H. carbonum* em Segmentos de Folhas com Lesões, Destacadas de Plantas Inoculadas em Campo.

Este experimento refere-se ao estudo da capacidade de esporulação do fungo *H. carbonum* em tecidos com lesões, destacados, aos 14, 22 e 30 dias após a inoculação em condições de campo, cujos dados estão apresentados nas Tabelas 6, 7 e 8. Além disso foram feitas observações quanto ao efeito do tipo de lesão na esporulação (Tabelas 6 e 7).

Na Tabela 6, correspondente à esporulação nos tecidos destacados aos 14 dias após a inoculação, verifica-se que o início da esporulação foi observada no período de 48 horas de incubação nos tecidos das linhagens suscetíveis (929-B5 e 316-B1) e no período de 72 horas de incubação nos tecidos das linhagens resistentes (20A-2 e 483-B4). Após 96 horas de incubação, a esporulação foi mais intensa nos tecidos das linhagens suscetíveis do que nos tecidos das linhagens resistentes.

Para a linhagem 483-B4 estudou-se a esporulação em dois tipos de lesões: em lesões do tipo ponto clorótico as quais eram caracterizadas por pequenas regiões de tecido descolorido ou de coloração branco-amarelada, sem a presença de tecido necrosado. As lesões do tipo clorótico-necrótico se caracterizavam por apresentarem uma pequena região de tecido necrosado em torno do qual observava-se uma região de tecido descolorido ou de coloração branco amarelada.

Para a linhagem 316-B1, semelhantemente, estudou-se a esporulação em lesões do tipo clorótico-necrótico e em lesões do tipo necrótico as quais se apresentavam como regiões de tecido necrosado de coloração palha (do tipo suscetível), sem a presença de regiões cloróticas em volta .

Observa-se na Tabela 6 que nos tecidos destacados aos 14

dias não houve influência do tipo da lesão no início da esporulação e na intensidade de esporulação após 96 horas de incubação.

Tabela 6. Esporulação de H. carbonum em tecidos com lesões destacados de linhagens resistentes e suscetíveis aos 14 dias após a inoculação em condições de campo

	Tipo de Reação	Tipo de Lesão	Período de incubação (h)			
			24	48	72	96
20A-2	R	ponto clorótico	0	-	+	++
483-B4	R	ponto clorótico	0	-	+	++
483-B4	R	lesão clorótico-necrótica	0	-	+	++
316-B1	S	lesão clorótico-necrótica	0	+	++	++++
316-B1	S	lesão necrótica	0	+	++	++++
929-B5	S	lesão necrótica	0	+	++	++++

(0) - Ausência de conidióforo ou conídio no tecido
(-) - Presença de conidióforos no tecido
(+) - Início da esporulação
(++) - Esporulação pequena e moderada
(+++) - Esporulação abundante no tecido
(++++) - Esporulação abundante no tecido e no papel de filtro em torno do tecido

R = resistente; S = suscetível

Nos tecidos destacados aos 22 dias após a inoculação (Tabela 7) verificou-se o início da esporulação no período de 48 horas de incubação nos tecidos com lesões necróticas das linhagens suscetíveis e no período de 96 horas nos tecidos das linhagens resistentes. A esporulação com 96

horas de incubação foi mais intensa nos tecidos das linhagens suscetíveis do que nos tecidos das linhagens resistentes. Além disso, a esporulação foi mais intensa nos tecidos da linhagem 929-B5 (suscetível) quando comparada com aquela verificada nos tecidos da linhagem 316-B1 (suscetível). Igualmente, a esporulação com 96 horas de incubação foi mais intensa nos tecidos da linhagem resistente 483-B4 do que nos tecidos de outra linhagem resistente 20A-2.

Nos tecidos da linhagem 316-B1 o tipo de lesão influenciou na esporulação, sendo esta mais intensa nos tecidos com lesão necrótica do que naqueles com lesões clorótico-necróticas.

Nos tecidos destacados aos 30 dias após a inoculação (Tabela 8), a esporulação nos tecidos das linhagens suscetíveis foi observada no período de 72 horas de incubação e nos tecidos das linhagens resistentes com 96 horas. Neste período, a esporulação foi mais intensa nos tecidos das linhagens suscetíveis que nos tecidos das linhagens resistentes. Ela foi maior nos tecidos do suscetível 929-B5 quando comparada com aquela verificada para o suscetível 316-B1 e maior nos tecidos da linhagem resistente 483-B4 do que aquela observada para a outra linhagem resistente 20A-2 .

Ao compararmos os resultados das Tabelas 6, 7 e 8, verificamos que houve uma tendência no sentido de retardar o início da esporulação nas lesões do tipo ponto clorótico à medida que se aumentou o número de dias para destacar-se os segmentos com lesões. O mesmo efeito foi observado com relação às lesões do tipo clorótico - necrótico em tecidos destacados aos 14 e 22 dias após a inoculação.

Tabela 7. Esporulação de H. carbonum em tecidos com lesões destacados de linhagens resistentes e suscetíveis aos 22 dias após a inoculação em condições de campo

Linhagem	Tipo de Reação	Tipo de Lesão	Período de incubação (h)			
			24	48	72	96
20A-2	R	ponto clorótico	0	0	-	+
483-B4	R	ponto clorótico	0	0	-	++
483-B4	R	lesão clorótico-necrótica	0	0	-	++
316-B1	S	lesão clorótico-necrótica	0	0	+	++
316-B1	S	lesão necrótica	0	+	+++	+++
929-B5	S	lesão necrótica	-	++	+++	++++

(0) - Ausência de conidióforo ou conídio no tecido
(-) - Presença de conidióforo no tecido
(+) - Início da esporulação
(++) - Esporulação pequena a moderada
(+++) - Esporulação abundante no tecido
(++++)- Esporulação abundante no tecido e no papel de filtro em torno do tecido

R - Resistente; S - suscetível.

Tabela 8. Esporulação de H. carbonum em tecidos com lesões, destacados de linhagens resistentes e suscetíveis aos 30 dias após a inoculação em condições de campo.

Linhagem	Tipo de Reação	Tipo de Lesão	Período de incubação (h)			
			24	48	72	96
20A-2	R	ponto clorótico	0	0	0	+
483-B4	R	ponto clorótico	0	0	0	++
316-B1	S	lesão necrótica	0	0	++	+++
929-B5	S	lesão necrótica	-	-	++	++++

(0) -Ausência de conidióforo ou conídio no tecido
(-) - Presença de conidióforo no tecico.
(+) - Início da esporulação
(++) - Esporulação pequena a moderada
(+++) - Esporulação abundante no tecido
(++++) - Esporulação abundante no tecido e no papel de filtro em torno do tecido

R - resistente; S - suscetível.

5.5. Esporulação de H. carbonum em segmentos de folhas com lesões, destacados de linhagens e híbridos inoculados em condições de casa de vegetação.

Os resultados da avaliação da capacidade de esporulação do patógeno H. carbonum em tecidos com lesões de híbridos F1, F2 e retrocruzamentos desenvolvidos e inoculados em casa de vegetação são apresentados nas Tabelas 9, 10 e 11.

Na Tabela 9, podem ser vistos os dados relativos à esporula-

ção em tecidos de linhagens e dos híbridos resultantes do cruzamento da linhagem 20A-2 (resistente) com a linhagem 929-B5 (suscetível).

Tabela 9. Esporulação de *H. carbonum* em segmentos de tecidos com lesões destacados de linhagens e híbridos F1, F2 e retrocruzamentos resultantes do cruzamento entre as linhagens 20A-2 (resistente) e 929-B5 (suscetível), cultivados e inoculadas em casa de vegetação.

Linhagens ou Híbridos	Tipo de Reação	Período de incubação (h)				
		24	48	72	96	120
20A-2	R	0	0	0	+	++
929-B5	S	-	+	++	+++	++++
20A-2x929-B5, F1	RI	0	0	0	+	++
20A-2x929-B5, F2	R	0	0	0	-	+
20A-2x929-B5, F2	RI	0	0	0	+	++
20A-2x929-B5, F2	S	0	0	-	++	+++
(20A-2x929-B5)x20A-2	R	0	0	0	+	++
(20A-2x929-B5)x20A-2	RI	0	0	-	+	+++
(20A-2x929-B5)x929-B5	RI	0	0	0	++	++
(20A-2x929-B5)x929-B5	S	-	+	++	+++	++++

(0) - Ausência de conidióforos ou conídios no tecido.
(-) - Presença de conidióforos no tecido.
(+) - Início da esporulação.
(++) - Esporulação pequena a moderada
(+++) - Esporulação abundante nos tecidos
(++++) - Esporulação abundante nos tecidos e no papel de filtro em torno do tecido.

R - resistente; RI - resistência intermediária; S - suscetível.

Decorridas 48 horas de incubação, já se pôde observar a esporulação nos tecidos das plantas suscetíveis, exceção para aqueles correspondentes às plantas F2. Nestes a esporulação foi observada com 96 horas de incubação quando também a mesma já havia se iniciado nos demais tecidos, exceto naqueles correspondentes às plantas F2 resistentes (R).

A esporulação final, observada após 120 horas de incubação, foi mais intensa nos tecidos da linhagem suscetível 929-B5 e do retrocruzamento suscetível (S), (20A-2x929-B5) x 929-B5, e menos intensa nos tecidos de plantas resistentes (R) da geração F2.

Na Tabela 10, estão apresentados os resultados relativos à esporulação nos tecidos de linhagens e dos híbridos resultantes do cruzamento da linhagem 20A-2 (resistente) com a linhagem 316-B1 (suscetível).

A esporulação nos tecidos da linhagem 316-B1 (S) foi observada no período de 48 horas de incubação sendo que neste período havia presença de conidióforos nos tecidos de plantas suscetíveis da geração F2 (20A-2x316-B1) e do retrocruzamento (20A-2x316-B1)x316-B1. Com exceção dos tecidos da linhagem 20A-2 (R) e aqueles de "resistência intermediária" (RI) do retrocruzamento (20A-2x316-B1)x20A-2, todos os demais apresentaram início da esporulação no período de 72 horas.

A esporulação final, observada após 120 horas de incubação, foi mais intensa nos tecidos da linhagem 316-B1, vindo em seguida, com idêntica intensidade, aquela verificada nos tecidos das plantas suscetíveis da geração F2, do retrocruzamento (20A-2x316-B1) x 316-B1 (S) e das plantas de "resistência intermediária" (RI), F1 e (20A-2x316-B1)x316-B1. A esporulação menor foi verificada nos tecidos resistentes (R), da geração F2.

Tabela 10. Esporulação de H. carbonum em segmentos de tecidos com lesões destacados de linhagens e híbridos F1, F2 e retrocruzamentos resultantes do cruzamento entre as linhagens 20A-2 (resistente) e 316-B1 (suscetível) cultivados em casa de vegetação.

Linhagens ou Híbridos	Tipo de Reação	Período de incubação (dias)				
		24	48	72	96	120
20A-2	R	0	0	0	+	++
316-B1	S	–	+	++	++++	++++
20A-2x316-B1, F1	RI	0	0	+	++	+++
20A-2x316-B1, F2	R	0	0	+	+	+
20A-2x316-B1, F2	RI	0	0	+	++	++
20A-2x316-B1, F2	S	–	–	+	++	+++
(20A-2x316-B1)x20A-2	R	0	0	+	+	++
(20A-2x316-B1)x20A-2	RI	0	0	0	+	++
(20A-2x316-B1)x316-B1	RI	0	0	+	++	+++
(20A-2x316-B1)x316-B1	S	–	–	++	+++	+++

(0) – Ausência de conidióforos ou conídios no tecido
(–) – Presença de conidióforos no tecido
(+) – Início de esporulação.
(++) – Esporulação pequena e moderada
(+++) – Esporulação abundante sobre o tecido
(++++) – Esporulação abundante sobre o tecido e no papel de filtro em torno do tecido.

R – resistente; RI – resistência intermediária; S – suscetível.

Quanto à esporulação nos tecidos das linhagens 929-B5 (suscetível), 483-B4 (resistente) e dos híbridos resultantes do cruzamento entre as mesmas (Tabela 11), foi observado que nos tecidos provenientes de plantas suscetíveis a esporulação se iniciou dentro do período de 24 horas, naqueles provenientes de plantas do tipo RI (resistência intermediária) no período de 48 horas (exceção para aqueles provenientes de plantas da geração F2) e naqueles provenientes de plantas resistentes apenas dentro do período de 72 horas.

Tabela 11. Esporulação de H. carbonum em segmentos de tecidos com lesões destacados de linhagens e híbridos F1, F2 e retrocruzamentos resultantes do cruzamento entre as linhagens 483-B4 (resistente e 929-B5 (suscetível) cultivadas em casa de vegetação.

Linhagens ou Híbridos	Tipo de Reação	Período de incubação (dias)				
		24	48	72	96	120
483-B4	R	0	0	+	++	+++
929-B5	S	+	+	++	++	+++
483-B4x929-B5, F1	RI	0	+	+	++	+++
483-B4x929-B5, F2	R	0	0	-	+	++
483-B4x929-B5, F2	RI	0	-	+	++	+++
483-B4x929-B5, F2	S	+	+	++	+++	++++
(483-B4x929-B5)x483-B4	R	0	0	-	+	++
(483-B4x929-B5)x483-B4	RI	-	+	+	++	++
(483-B4x929-B5)x929-B5	RI	-	+	+	++	++
(483-B4x929-B5)x929-B5	S	+	+	++	++	+++

(0) - Ausência de conidióforos ou conídios no tecido
(-) - Presença de conidióforos no tecido
(+) - Início da esporulação
(++) - Esporulação pequena a moderada
(+++) - Esporulação abundante no tecido
(++++) - Esporulação abundante no tecido e no papel de filtro em torno do tecido

R - resistente; RI - resistência intermediária; S - suscetível.

Verifica-se que houve um atraso na esporulação do patógeno nos tecidos da linhagem 20A-2 e dos híbridos nos quais entrou como componente quando a mesma foi comparada com a esporulação nos tecidos dos demais híbridos e linhagens (Tabelas 9, 10 e 11).

Estudando-se a esporulação nos períodos de 96 horas (Tabelas 9 e 10) e no período de 72 horas (Tabela 11), nos quais a esporulação já havia praticamente se iniciado em todos os segmentos de tecido, verifica-se que em todos os casos a esporulação para a linhagem suscetível foi maior que aquela verificada para a linhagem resistente e para o respectivo híbrido F1.

Com relação aos híbridos F2 nos períodos de 96 horas (Tabelas 9 e 10) e 72 horas (Tabela 11) verifica-se que a esporulação em segmentos com lesões do tipo suscetível foi mais intensa que aquela verificada em segmentos com lesões do tipo "resistência intermediária" sendo nestes mais intensa que aquela observada nos segmentos com lesões do tipo resistente (a exceção daqueles correspondentes ao híbrido 20A-2x316-B1, F2 (Tabela 10).

Ainda nas Tabelas 9, 10 e 11 verifica-se que com relação aos retrocruzamentos houve uma tendência no sentido de que a esporulação, nos tecidos com lesões do tipo "resistência intermediária", fosse maior que aquelas verificadas para os segmentos com lesões do tipo resistente e menor que para aquelas do tipo suscetível. Pode-se observar no entanto que para os retrocruzamentos (929-B5x20A-2)20A-2 e (20A-2x316-B1)20A—2 a esporulação nos tecidos com lesões do tipo "resistência intermediária" foi igual àquela verificada para lesões do tipo resistente.

5.6. Patogenicidade de reisolados de *H. carbonum* provenientes de lesões grandes e pequenas após passagens seriadas por diferentes hospedeiros.

Os resultados obtidos para o estudo da patogenicidade de isolados de *H. carbonum* provenientes de lesões grandes e pequenas sobre a linhagem 929-B5 após passagens seriadas nas linhagens 929-B5 e 20A-2, são apresentados na Tabela 12 de texto e Tabelas III e IV do Apêndice.

A média geral dos tamanhos das lesões formadas por isolados provenientes de lesões grandes foi de 10,97 mm contra 9,20 mm daquelas formadas por isolados provenientes de lesões pequenas, quando sofreram passagem seriada pela linhagem 929-B5 (Tabela 12).

Segundo a análise de variância (Tabela III do Apêndice) o tamanho médio das lesões formadas por isolados provenientes de lesões grandes foi significativamente maior, ao nível de 1% de probabilidade, que aquelas formadas por isolados provenientes de lesões pequenas, quando todos sofreram passagem seriada pela linhagem 929-B5.

A análise de variância mostrou que houve diferença significativa, ao nível de 5% de probabilidade, entre os tamanhos de lesões formadas por isolados provenientes de lesões pequenas, quando sofreram passagem seriada pela linhagem 929-B5, não acontecendo o mesmo entre médias das lesões formadas por isolados provenientes de lesões grandes (Tabela III do Apêndice).

Segundo o teste de Tukey, com um $\Delta = 4,08$ ao nível de 5% de probabilidade, feito para lesões formadas por isolados provenientes de lesões pequenas, o tamanho da lesão formada pelo isolado P4 foi significativamente menor que as demais, não havendo diferença significativa entre os demais.

As médias dos tamanhos das lesões após os isolados sofrerem passagem seriada na linhagem 20A-2 são também apresentadas na Tabela 12. A média geral dos tamanhos das lesões formadas pelos isolados provenientes de lesões grandes foi de 10,44 mm contra 9,10 mm daquelas formadas pelos isolados provenientes de lesões pequenas.

A análise de variância (Tabela IV do Apêndice) mostrou que a média dos tamanhos das lesões formadas pelo grupo de isolados provenientes de lesões grandes foi significativamente maior, ao nível de 5% de probabilidade, do que aquela correspondente ao tamanho das lesões formadas pelos isolados provenientes de lesões pequenas.

O tamanho médio das lesões na linhagem 929-B5, após a passagem seriada do patógeno pelo hospedeiro resistente, tenderam a ser menores quando comparadas com aquelas formadas quando o mesmo sofreu passagem pelo hospedeiro suscetível como pode ser observado na Tabela 12. As médias dos comprimentos das lesões formadas pelo grupo de isolados provenientes de lesões grandes e pequenas após passagem seriada pela linhagem 929-B5 foram respectivamente 10,97 mm e 9,20 mm contra 10,44 mm e 9,10 mm após passagem seriada pela linhagem 20A-2.

Tabela 12. Tamanhos médios das lesões (comprimento em mm) formadas na linhagem 929-B5 por isolados de H. carbonum provenientes de lesões grandes e pequenas, após passagens seriadas em hospedeiros resistente e suscetível.

Isolados	Passagem seriada nos hospedeiros	
	929-B5	20A-2
G1	10,35(c)	8,91
G2	10,82	10,50
G3	11,46	11,40
G4	11,46	-
G5	10,75	-
G7	-	10,53
G8	-	10,85
Médias	10,97**	10,44*
P1	9,14 a	-
P2	10,07 a	8,26
P4	7,18 b	-
P5	9,05 a	8,43
P9	-	10,98
P10	10,57 a	7,42
P11	-	10,42
Médias	9,20	9,10

(a, b) - Valores acompanhados de letras diferentes dentro de uma mesma subcoluna, diferiram significativamente

(*) - diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade entre as médias de uma mesma coluna.

(**) - diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade entre as médias de uma mesma coluna.

(-) - resultados perdidos devido perdas dos isolados por contaminação

(c) - médias de 60 lesões.

6. DISCUSSÃO

6.1. Reações de Linhagens e Híbridos F1 de Milho a H. carbonum

Tanto no experimento de campo como no de casa de vegetação, os tamanhos médios das lesões na linhagem 20A-2 foram menores que os tamanhos médios verificados para a linhagem 483-B4, embora as diferenças não tenham sido significativas. De forma semelhante os híbridos F1 cujo progenitor resistente foi a linhagem 20A-2 apresentaram lesões de tamanhos médios menores que aqueles observados para os híbridos F1 cujo progenitor resistente foi a linhagem 483-B4. Estes resultados sugerem que a linhagem 20A-2 além de ser mais resistentes a H. carbonum que a linhagem 483-B4 também origina híbridos comparativamente mais resistentes.

O híbrido 20A-2x483-B4 apresentou, tanto em condições de campo como em casa de vegetação, tamanhos médios de lesões apenas um pouco maiores que os tamanhos médios da linhagem 20A-2 e relativamente bem menores que os tamanhos médios relativos à linhagem 483-B4 confirmando que a linhagem 20A-2 é uma boa transmissora de resistência.

Por outro lado, a linhagem 929-B5 evidenciou maior grau de suscetibilidade que a linhagem 316-B1, segundo o tamanho das lesões, já que, tanto em condições de campo como em casa de vegetação, os tamanhos médios das lesões para a linhagem 929-B5 foram maiores. Quanto ao híbrido resultante do cruzamento entre as duas linhagens suscetíveis, 929-B5x316-B5, o mesmo apresentou no campo um tamanho médio para lesões menor que os tamanhos médios encontrados para os progenitores, enquanto que, em condições de casa de vegetação, o tamanho médio das lesões para o híbrido 929-B5x316-B1 foi intermediário aos tamanhos médios correspondentes às duas linhagens progenitoras. Esta diferença pode ser resultado da influência de fatores de ambiente ou da idade da planta.

O fato dos híbridos F1, heterozigotos, apresentarem lesões de comprimentos médios intermediários quando comparadas com as lesões apresentadas pelos progenitores (sendo menores que os comprimentos médios das lesões do progenitor suscetível), sugere um tipo de dominância parcial para resistência a H. carbonum nas linhagens 20A-2 e 483-B4.

Resultados semelhantes foram encontrados por Hooker (1974c), trabalhando com a raça 1 de H. carbonum em condições de casa de vegetação, quando observou que as lesões pequenas das linhagens de milho progenitores tenderam a ser dominantes sobre as lesões grandes nos híbridos. Semelhantemente, trabalhando em condições de campo, Hooker (1975) verificou que os híbridos sofreram menos danos causados pela doença que as linhagens, sendo que a resistência das linhagens H95 e R177 tenderam a ser dominantes nos híbridos.

Quanto ao tipo de lesão, a linhagem 20A-2 apresentou maior grau de resistência que a linhagem 483-B4, já que, tanto em condições de campo como em casa de vegetação, ela apresentou maior número de lesões clo

róticas quando comparada com a linhagem 483-B4.

Por outro lado, através de observações de campo, foi observado que a linhagem 316-B1, em certas condições, revelou um retardamento na reação de suscetibilidade quando comparada com aquela observada na linhagem 929-B5. Esta diferença provavelmente reflete diferenças nos graus de suscetibilidade entre as duas linhagens.

Se considerarmos que as lesões cloróticas e as clorótico-necróticas em plantas resistentes são resultantes de um bloqueio no desenvolvimento das relações patogênicas e que as lesões necróticas, de coloração palha e bem definidas nas linhagens suscetíveis como resultantes de um desenvolvimento rápido da atuação do patógeno, pode-se sugerir que as reações do tipo "resistência intermediária" descritos para os híbridos F1, heterozigotos, correspondem a um tipo intermediário que reflete um grau de resistência menor que do progenitor resistente. Nas reações de "resistência intermediária", as lesões pardas de tamanhos médios menores e pouco definidas seriam resultantes do desenvolvimento de um processo que determina um desenvolvimento mais rápido que aquele observado para o progenitor resistente e mais lento que aquele correspondente ao progenitor suscetível.

Quanto às reações apresentadas pelos híbridos F1 resultantes de cruzamentos recíprocos entre as linhagens, as mesmas não apresentaram evidências quanto a um possível efeito citoplasmático para os caracteres estudados. Hooker (1974) já havia observado a não ocorrência de um efeito citoplasmático para o caráter tamanho da lesão em plantas de milho infectadas por H. carbonum.

6.2. Reações de Linhagens e Híbridos F1, F2 e Retrocruzamentos de milho a *H. carbonum*

O estudo das reações ao patógeno nas gerações F1, F2 e retrocruzamentos permitiu separar as plantas em 3 grupos, de acordo com a reação ao patógeno, ou sejam: plantas resistentes, plantas de "resistência intermediária" e plantas suscetíveis.

As relações obtidas para os números de plantas segregantes em cada tipo de reação sugerem um tipo de herança para resistência governada por um par de genes com dominância parcial, nos híbridos estudados.

As gerações de plantas F2 e retrocruzamentos permitiram considerar como homozigotas para resistência as plantas com alto grau de resistência, semelhante ao grau de resistência do progenitor resistente; homozigotas para suscetibilidade aquelas com alto grau de suscetibilidade, , semelhante à suscetibilidade do progenitor suscetível; e plantas heterozigotas seriam aquelas com o tipo de "resistência intermediária" semelhante àquela apresentada pelos híbridos F1 heterozigotos.

A ocorrência de uma possível herança do tipo poligênica foi considerada improvável, devido à ausência de uma variação contínua para resistência ao patógeno ou manifestação quantitativa para um mesmo tipo de reação nas gerações segregantes.

As diferenças observadas por diferentes pesquisadores nos estudos de herança da resistência a *H. carbonum* podem, provavelmente, ser atribuídas a diferenças no critério de avaliação das reações para resistência e suscetibilidade.

Assim, Ullstrup (1941b) estudou a herança de suscetibilidade

a H. carbonum raça 1 e afirma não haver encontrado dificuldade em separar plantas suscetíveis das resistentes. As plantas da linhagem Pr foram as únicas suscetíveis encontradas nas populações originais. As demais plantas, inclusive os híbridos F1, nos quais foi incluída a linhagem Pr, foram altamente resistentes ao patógeno. Através dos resultados obtidos, sugeriu que na linhagem Pr a herança para suscetibilidade é recessiva e monogênica.

Embora Ullstrup (1941b) não descreva o critério utilizado para a avaliação do tipo de reação ao patógeno, é possível que tenha se baseado no tipo de lesão, visto que nos seus trabalhos (Ullstrup, 1944,1945b e Ullstrup e Brusson, 1947) caracteriza as reações das plantas de milho a H. carbonum através da descrição do aspecto das lesões.

Por outro lado, Hooker (1974a, 1974c e 1975) avaliou a resistência das plantas de milho e H. carbonum baseando-se principalmente no tamanho médio das lesões e encontrou resultados semelhantes aos apresentados no presente trabalho, observando que em algumas linhagens a resistência a H. carbonum apresentou uma tendência para dominância, não fazendo, semelhantemente a Ullstrup (1941b), qualquer referência a um tipo de dominância parcial.

Uma outra hipótese para explicar as diferenças entre os resultados do presente trabalho e aqueles encontrados por Ullstrupo (1941b) pode ser formulada, levando-se em conta que os diferentes fundos genéticos dos híbridos poderiam determinar influências na expressão dos sintomas. O fato de Hooker (1974a, 1974c e 1975) haver encontrado que a resistência a H. carbonum tendeu a ser dominante em algumas linhagens e não em outras, além de sugerir diferentes tipos de herança na população de linhagens com a qual trabalhou, pode, por outro lado, representar o resultado da influência na expressão da sintomatologia, dos diferentes fundos genéticos presentes nos híbridos.

Um outro fator que deve ser levado em consideração ao se comparar os resultados do presente trabalho com aqueles encontrados por Ullstrup (1941b) e por Hooker (1974a, 1974c e 1975) se refere ao ambiente. Segundo Allard (1971), para que um gene possa expressar fenotipicamente um caráter há necessidade de um ambiente adequado. Menezes (1976) aventou a possibilidade de que diferenças entre a sintomatologia apresentada pela linhagem Pr com relação à raça 1 nos trabalhos de Ullstrup (1944) e aqueles que encontrou com relação ao isolado "7L", possam, provavelmente, ser devidos, ou a diferenças entre os patógenos utilizados, ou devido a condições do ambiente.

Ainda com referência a este assunto, Stakman e Christensen (1960) chamam atenção para a dificuldade em se generalizar sobre o modo de herança dos fatores para resistência, sendo que as determinações devem ser feitas para cada caso. O modo de herança encontrado numa determinada cultura para um certo patógeno pode diferir grandemente nos diversos cruzamentos. Generalizações com respeito a modo de herança não podem ser aplicados a casos específicos.

Os segregantes das gerações F2, provenientes das autofecundações feitas nos híbridos 20A-2x929-B5 e 483-B4x929-B5, apresentaram um certo atraso no desenvolvimento dos sintomas para suscetibilidade. Semelhantemente, os híbridos resultantes dos retrocruzamentos para o respectivo progenitor resistente, também apresentaram um atraso no desenvolvimento dos sintomas do tipo "resistência intermediária".

Estes fatos, provavelmente, refletem um efeito do vigor híbrido sobre a manifestação da reação da planta ao patógeno.

De qualquer maneira, há necessidade da realização de outras pesquisas visando a obtenção de linhagens diferenciadoras para identifica

ção das raças de H. carbonum existentes no Brasil, como também no sentido de encontrar outras fontes de resistência monogênica, principalmente, com dominância completa. Com referência às linhagens 20A-2 e 483-B4, o desenvolvimento de gerações F3 poderá fornecer dados mais concretos quanto ao tipo de herança à H. carbonum. Além disso, há necessidade de que o estudo das reações das plantas a H. carbonum seja feito em diferentes condições de ambiente.

A avaliação da resistência em linhagens e híbridos F1 de milho a H. carbonum feita quando as plantas atingem o estágio de 4-5 folhas, em condições de casa de vegetação, ou no estágio de 5-6 folhas, em condições de campo, mostrou uma boa correspondência, revelando que os dois métodos são vantajosos principalmente sob o ponto de vista prático. Além de possibilitarem a obtenção de resultados em um espaço de tempo curto, permitem a utilização de grande número de plantas em espaço relativamente pequeno. O controle de ambiente sendo mais fácil do que no caso de plantas adultas permite obtenção de uma sintomatologia desejável o que facilita a separação de plantas resistentes de maneira bastante criteriosa.

Os resultados de Hooker (1974b e 1975), estabelecendo uma correlação entre o tamanho médio das lesões e a percentagem da área infectada em condições de campo, reforçam a validade do uso do tamanho médio das lesões como meio de avaliação do grau de resistência das plantas a H. carbonum, tanto em condições de casa de vegetação como em condições de campo, desde que as condições de ambiente sejam favoráveis ao desenvolvimento da doença. Além disso, o tipo de lesão, envolvendo pigmentação, conformação, presença de clorose, além do tamanho, mostrou-se como um critério vantajoso no julgamento da resistência das plantas a H. carbonum, devido a maior facilidade na separação de plantas resistentes e suscetíveis.

6.3. Esporulação de H. carbonum em Segmentos de Folhas com Lesões em Condições de Câmara Úmida

A resistência das plantas a H. carbonum manifestada pela presença de pontos cloróticos ou de pequenas lesões clorótico-necróticas nas folhas correspondeu a um retardamento no início da esporulação do patógeno, em segmentos de tecidos, em câmara úmida. Enquanto a esporulação nos tecidos com lesões necróticas, obtidos das linhagens suscetíveis, se iniciou no período de 48 horas de permanência em câmara úmida, para tecidos destacados aos 14 e 22 dias após a inoculação, nas lesões do tipo ponto clorótico das linhagens resistentes à esporulação só se iniciou nos períodos de 72 e 96 horas.

De maneira semelhante, nos tecidos destacados aos 30 dias, a esporulação se iniciou dentro de 72 e 96 horas, respectivamente, para lesões do tipo necróticas e do tipo ponto clorótico.

Para as lesões do tipo ponto clorótico, observou-se uma tendência no sentido de atrasar o início da esporulação à medida que aumentou o número de dias após a inoculação para se destacar os segmentos de folhas, mostrando um possível efeito ou da idade do tecido foliar ou da idade da lesão na esporulação do fungo. No entanto, não foi verificada uma tendência semelhante para as lesões do tipo necrótico.

Para um período de 96 horas de permanência na câmara úmida, nos tecidos que foram destacados aos 22 e 30 dias após a inoculação, observou-se maior esporulação nos tecidos da linhagem 483-B4 quando comparados com os da linhagem 20A-2. De maneira semelhante, observou-se uma maior esporulação nos tecidos da linhagem 929-B5 que nos da linhagem 316-B1. Se for levado em consideração que a linhagem 20A-2 mostrou-se mais resistente que a linhagem 483-B4 e que 316-B1 foi menos suscetível que

929-B5, quanto à sintomatologia verificada nas folhas, pode ser aventada a possibilidade de se obter informações precisas quanto à resistência das plantas através do estudo da esporulação do patógeno em segmentos de tecido em câmara úmida. No entanto, é importante levar em consideração a idade do tecido ou da lesão bem como o tempo de inoculação em câmara úmida. Para isso, há necessidade de mais estudos, inclusive no sentido de se estabelecer as melhores condições de luz e de temperatura durante a permanência dos segmentos de tecido em câmara úmida.

O estudo da esporulação nos segmentos de tecidos provenientes dos híbridos F1, segregantes F2 e retrocruzamentos mostrou que o início da esporulação nos tecidos com lesões do tipo resistente se iniciou mais tarde, quando comparada com aquela verificada para os tecidos do tipo suscetível, sendo que nos tecidos com lesões do tipo "resistência intermediária" a esporulação se iniciou mais cedo ou no mesmo período que aquela verificada para os tecidos do tipo resistente e, de um modo geral, mais tarde com relação aos do tipo suscetível. Com relação à intensidade de esporulação no período de 96 horas para os segregantes F2 e retrocruzamentos provenientes dos híbridos 20A-2x929-B5 e 20A-2x316-B1 e no período de 72 horas para os segregantes F2 e retrocruzamentos provenientes do híbrido 483-B4x929-B5, observou-se que a mesma foi mais intensa nos segregantes do tipo suscetível e menos intensa nos segregantes do tipo resistente, havendo uma tendência no sentido de que a esporulação nos tecidos do tipo "resistência intermediária" fosse de intensidade intermediária. Estes resultados mostram, mais uma vez, que o estudo da esporulação em segmentos de tecido com lesões, em condições de câmara úmida, pode ser de grande utilidade no julgamento do grau de resistência das plantas a H. carbonum. Com respeito a este aspecto, Hilu e Hooker (1963) afirmam que, apesar de haver maior inibição em lesões em folhas intactadas, nas plantas em desenvolvimento do que em folhas destacadas, é mais conveniente usar segmentos de

folhas destacadas no estudo de esporulação, já que essencialmente se obtem a mesma informação.

A observação de que nos tecidos com reações de resistência, o início da esporulação do patógeno é retardado e a intensidade da esporulação é menor, se reveste de grande interesse, principalmente sob o ponto de vista epidemiológico, visto que a resistência da planta representa menor taxa de multiplicação do patógeno que tem um efeito direto no inóculo existente. Além disso, um atraso no início da esporulação e uma esporulação menor do patógeno nos tecidos destacados aos 22 e 30 dias quando comparados com aqueles destacados aos 14 dias pode, provavelmente, significar que o fungo não encontrando um tecido adequado para o seu desenvolvimento tem a sua capacidade de esporulação diminuída à medida que aumenta o tempo de permanência no hospedeiro resistente. É necessário lembrar que após a morte dos tecidos a resistência ao patógeno é nula, facilitando o pleno desenvolvimento e multiplicação do fungo.

6.4. Patogenicidade de Reisolados Provenientes de Lesões Grandes, Pequenas e Efeito de Passagem Seriada

Os reisolados oriundos de isolados provenientes de lesões grandes na linhagem 929-B5 apresentaram uma tendência em formar lesões maiores no hospedeiro suscetível mesmo após 4 passagens consecutivas, ou através do hospedeiro suscetível, ou pelo hospedeiro resistente, quando comparados com aqueles provenientes de lesões pequenas. Estes resultados sugerem a presença de dois ou mais biótipos, com patogenicidade diferente, compondo o isolado "7L" de *H. carbonum*. Os reisolamentos sucessivos feitos para cada isolado, tanto de lesões grandes ou pequenas, teriam dado origem a uma seleção de biótipos que variaram na sua patogenicidade à linhagem 929-B5.

Os reisolados obtidos de lesões pequenas mostraram uma tendência a originar lesões de tamanhos médios mais heterogêneos entre si, podendo estes dados representarem a existência de mais que um biótipo com patogenicidade diferente dentro deste grupo.

No tocante às relações patógeno x hospedeiro, Robert e Sprague (1960) argumentaram que se por um lado as diferenças entre a patogenicidade de um mesmo grupo de isolados em dois hospedeiros distintos podem ser devidas a diferenças genéticas dos hospedeiros quanto à resistência ao fungo, as diferenças na patogenicidade de dois grupos de isolados com relação ao mesmo hospedeiro resultam de variações na constituição do fungo em relação à especificidade do hospedeiro. É interessante observar que com os grupos de reisolados de lesões grandes e pequenas foi possível detectar dois hospedeiros geneticamente distintos quanto à resistência ao patógeno, sendo eles as linhagens 929-B5, suscetível, e 20A-2 resistente. Por outro lado, com a linhagem 929-B5 foi possível separar grupos de reisolados com diferentes graus de patogenicidade a esta linhagem. Este fato revela a grande importância que se deve dar ao uso de biótipos altamente patogênicos em trabalhos de melhoramento.

Stakman e Christensen (1960) afirmam que pouco se sabe sobre a grande população de biótipos dentro de uma espécie de um determinado patógeno e sobre os métodos para identificá-los e classificá-los visando determinação de sua patogenicidade.

A passagem seriada dos reisolados pelo hospedeiro resistente revelou uma tendência para uma certa redução na patogenicidade à linhagem 929-B5, quando comparada com aqueles que foram passados seriadamente na linhagem suscetível. As médias dos tamanhos das lesões formadas na linhagem 929-B5 pelo grupo de isolados que sofreram passagem seriada pela li

nhagem 20A-2 tenderam a ser menores que aquelas correspondentes às lesões formadas pelos isolados que sofreram passagens sucessivas pela linhagem 929-B5. Estas observações sugerem uma tendência para diminuição da patogenicidade dos reisolados após os mesmos sofrerem passagens seriadas pelo hospedeiro resistente.

Embora, durante a condução do experimento, o patógeno tenha sofrido apenas 4 passagens pelos hospedeiros, pode-se admitir a existência de um número muito maior de passagens do fungo pela linhagem 929-B5, uma vez que durante todos os trabalhos conduzidos anteriormente, por Menezes (comunicação pessoal) e posteriormente nos preliminares deste trabalho, o isolado "7L" foi sempre preservado e reisolado a partir de folhas da linhagem 929-B5. Assim sendo, pode-se admitir a possibilidade do patógeno haver sofrido um tipo de "adaptação" nesta linhagem, inclusive podendo-se aventar a hipótese de um possível efeito seletivo da linhagem 929-B5 sobre os biótipos mais patogênicos componentes do isolado "7L".

Robert e Sprague (1960) verificaram que alguns isolados de H. turcicum foram mais patogênicos à linhagem da qual foram obtidos do que em outras. Afirmam, no entanto, que a passagem de um fungo por um hospedeiro suscetível pode resultar no aumento de sua patogenicidade em alguns casos ou diminuição em outros. É uma característica do fungo que se mostra pouco estável, sendo que pouco se conhece ainda sobre o efeito do hospedeiro na patogenicidade do fungo.

A passagem seriada dos isolados pelo hospedeiro resistente não resultou no aparecimento de reações do tipo suscetível no mesmo. Esta observação indica, ou a inexistência de biótipos virulentos à linhagem 20A-2 na população de esporos usada, ou que 4 passagens sucessivas não foram suficientes para tornar evidente um possível variante capaz de vencer a resistência desta linhagem.

Há necessidade de mais estudos com relação a H. carbonum , quer usando isolados de origens mais diversas, quer utilizando hospedeiros diferentes a fim de melhor conhecer-se o efeito do hospedeiro na patogenicidade do fungo, principalmente no sentido de pesquisar, ou o tipo de adaptação, ou a modificação que possa ocorrer no complexo patógeno-hospedeiro.

Além da identificação de novas fontes de resistência, estudos sobre o tipo de herança e da variabilidade do fungo, é necessário, no futuro, conhecer-se os mecanismos de resistência envolvidos nas relações patógeno-hospedeiro.

7. CONCLUSÕES

1. Os tamanhos médios das lesões causadas por H. carbonum em híbridos heterozigotos de milho obtidos a partir de cruzamento das linhagens 20A-2 e 483-B4, resistentes, com as linhagens 929-B4 e 316-B1, suscetíveis, foram intermediários aos tamanhos médios das lesões dos respectivos progenitores.

2. A avaliação da resistência baseada no tipo de lesão sugere que a herança da resistência a H. carbonum nas linhagens 20A-2 e 483-B4 é governada por um par genes com dominância parcial.

3. A linhagem 20A-2 apresentou maior grau de resistência a H. carbonum que a linhagem 483-B4, revelando-se como uma boa fonte de resistência ao patógeno.

4. A esporulação de H. carbonum, em segmentos de tecido foliar com lesões, em condições de câmara úmida, foi influenciada pelo tipo de lesão formada, revelando-se um método útil na avaliação do grau de resistência das plantas ao patógeno.

5. Reisolados de H. carbonum provenientes de lesões grandes tenderam a formar lesões maiores que aqueles reisolados provenientes de lesões pequenas, sugerindo a presença de mais de um biótipo para patogenicidade compondo o isolado "7L".

6. Passagens sucessivas do patógeno pelo hospedeiro resistente não permitiram selecionar "variantes" virulentos ao mesmo. No entanto, tenderam diminuir a patogenicidade dos reisolados sugerindo um tipo de adaptação do patógeno à linhagem 929-B5.

8. SUMMARY

Reactions of lines and hybrids of corn to one isolate of Helminthosporium carbonum Ullstrup were studied according to average lesions they caused in the field and greenhouse conditions. F_1 hybrids showed larger average lesions than those observed in their respective resistant progenitors and smaller ones than those formed in susceptible progenitors.

The type of lesions of F_1 in their form, average size and the presence of chlorosis was different from that presented by the resistant and susceptible progenitors.

Using as a criterion for evaluation the type of lesion induced by the pathogen and characterised by its form, pigmentation, average size and presence of chlorosis, it was possible to determine one type of "Intermediate Resistance" for the heterozygous F_1 hybrids.

The analysis of F_1, F_2 and backcrossings generations, resulting from crossings of a resistant line 20A-2 with susceptible lines 929-B5 and 316-B1, and a resistant line 483-B4 with a susceptible 929-B5 made it possible to determine that inheritance for resistance is controlled by

a pair of genes with partial dominance.

By studying sporulation of the pathogen on leaf segments with lesions which had been kept in a moist chamber, it was found that the initial intensity of the pathogen sporulation was affected by type of lesion and the age of the host tissue.

Sporulation in resistant segregating progenies was initiated much later and has a lesser sporulation intensity when compared with that observed in susceptible plants, thus indicating that studies about sporulation in moist chambers may provide valuable information on evaluation of the degree of resistance of plants to H. carbonum.

After serial passages of the pathogen obtained from line 929-B5 through susceptible and resistant hosts, there was a tendency of isolates from larger lesions to form larger lesions in susceptible hosts more frequently than those formed by isolates from smaller lesions.

Passing the isolates in a resistant host four consecutive times revealed a tendency for the some isolates to lose their pathogenicity in a susceptible line. However, four passages of the isolates through a resistant line was not sufficient to substantiate the presence of any "variant" pathogenic to a resistant line 20A-2.

Line 20A-2 proved to be more resistant than line 483-B4. Similarly, heterozygous hybrids which had line 20A-2 as a resistant progenitor were more resistant than those in which resistant line 483-B4 was used as a progenitor. Thus, line 20A-2 was considered more promising as a source of resistance than 483-B4 for breeding purposes.

9. LITERATURA CITADA

ALLARD, R.W. 1971. Princípios de Melhoramento das plantas. Edgar Blücher, 381 pp.

BLANCO, M.H.; R.R. NELSON; J.E. AYERS; J.P. HILL e S. DALMACIO, 1974. Racial composition of Helminthosporium maydis and H. carbonum on corn hybrids in normal cytoplasm in Pennsylvania in 1973. Pl. Dis. Reporter, Beltsville, Maryland, 58:934-936.

CASTRO, C. 1976. Mudanças em esporulação e patogenicidade de Helminthosporium sativum Pamm. King & Bakke através de passagens seriadas em hospedeiros. Piracicaba, ESALQ-USP, 59 pp (Tese de Mestrado).

CRAIG, J. e L.A. DANIEL-KALIS, 1968. Chlorotic lesion resistance to Helminthosporium maydis in maize. Pl. Dis. Reporter, Beltsville, Maryland, 52:134-136.

DRECHSLER, C. 1923. Some graminicolous species of Helminthosporium. Jour. Agric. Research, Washington, 24:641-739.

FISHER, D.E.; A.L. HOOKER; S.M. LIM e D.R. SMITH, 1976. Leaf infection and yield loss caused by four Helminthosporium leaf diseases of corn. Phytopathology, St. Paul, Minnesota, 66:942-944.

HILU, H.M. e A.L. HOOKER, 1963. Monogenic chlorotic lesion resistance to Helminthosporium turcicum in corn seedlings. Phytopathology. St. Paul, Minnesota, 53:909-912.

HOOKER, A.J. 1974a. Reaction of corn inbreds to Helminthosporium leaf spot in the greenhouse. Pl. Dis. Reporter, Beltsville, Maryland, 58:399-400.

HOOKER, A.J. 1974b. Field Reaction of corn inbreds to Helminthosporium leaf spot. Pl. Dis. Reporter, Beltsville, Maryland, 58:909-911.

HOOKER, A.J. 1974c. Seedling Reactions of corn hybrids to Helminthosporium leaf spot. Pl. Dis. Reporter, Beltsville, Maryland, 58:975-977.

HOOKER, A.J. 1975. Field reactions of corn hybrids to Helminthosporium leaf spot. Pl. Dis. Reporter, Beltsville, Maryland, 59:646-648.

HOOKER, A.L., H.M. HILU, D.R. WILKINSON e C.G. Van DYKE, 1964. Addicional sources of chlorotic-lesion resistance to Helminthosporium turcicum in corn. Pl. Dis. Reporter, Beltsville, Maryland, 48:777-780.

HOOKER, A.L., D.R. SMITH, S.M. LIM e J.B. BECKETT, 1970. Reaction of corn seedlings with male-sterile cytoplasm to Helminthosporium maydis. Pl. Dis. Reporter, Beltsville, Maryland, 54:708-718.

HOOKER, A.L., AKOS MESTERHAZY, D.R. SMITH, e S.M. LIM, 1973. A new Helminthosporium leaf blight of corn in the Northern Corn Belt. Pl. Dis. Reporter, Beltsville, Maryland, 57:195-198.

KINSEY, J.G. 1971. Pathogenicity of Helminthosporium turcicum following serial passage through corn. University of Illinois, U.S.A. 34 pp. (Tese de M.S.).

KINSEY, J.G. e A.L. HOOKER, 1973. Changes in the Helminthosporium turcicum populations following serial host passage. Plant Dis. Reporter, Beltsville, Maryland, 57:590-591.

LUTTRELL, E.S., 1951. A key to species of Helminthosporium reported on grasses in the United States. Pl. Dis. Reporter, Beltsville, Maryland. Suppl. 201:59-67.

MALCA, I. e A.J. ULLSTRUP, 1962. Effects of carbon and nitrogen nutrition on growth and sporulation of two species of Helminthosporium. Bull. Torrey Bot. Club, Lancaster, Pennsylvania, 89:240-249.

MENEZES, MARIA, 1976. Variabilidade de Helminthosporium carbonum e determinação de fontes de resistência em linhagens de milho (Zea mays L.) Piracicaba, ESALQ, USP, 107 pp (Tese de Doutor).

NELSON, R.R., 1959. Cochliobolus carbonum, the perfect stage of Helminthosporium carbonum. Phytopathology, St. Paul, Minnesota, 49:807-810.

NELSON, R.R., M. BLANCO, S. DALMACIO e B. SHAIN MOORE. 1973. A new race of Helminthosporium carbonum on corn. Pl. Dis. Reporter, Beltsville, Maryland, 57:822-823.

PATEL, B.N. e D.C. BAIN, 1973. Reactions of five species of graminae to races O e T of Helminthosporium maydis and race 2 of H. carbonum. Pl. Dis. Reporter, Beltsville, Maryland, 57:507-508.

PEREIRA, W.S.P. 1976. Patogenicidade de Helminthosporium turcicum Pass. em milho (Zea mays L.) e em sorgo (Sorghum vulgare Pers.). Universidade de São Paulo, Piracicaba, 69 pp. (Tese M.S.).

ROBERT, ALICE L. 1962. New hosts for three Helminthosporium species from corn. Pl. Dis. Reporter. Beltsville, Maryland, 46:321-324.

ROBERT, ALICE L. e G.F. SPRAGUE, 1960. Adaptation of the corn leaf blight fungus to a resistant and a susceptible corn host. Phytopathology, St. Paul, Minnesota, 50:261-263.

SMITH, D.R., A.L. HOOKER e S.M. LIM. 1970. Physiologic races of Helminthosporium maydis. Pl. Dis. Reporter, Beltsville, Maryland, 54:819-822.

STAKMAN, E.C. e J.J. CHRISTENSEN, 1960. Breeding resistant varieties. In: Plant Pathology III. Horsfall e Dimond. Academic Press, N.Y. 675 pp.

STAKMAN, E.C. e J. GEORGE HARRAR. 1957. Principles of plant pathology. The Ronald Press Company. N.Y. 581 pp.

THE AMERICAN PHYTOPATHOLOGICAL SOCIETY. 1973. Compendium of Corn Diseases. St. Paul, Minnesota, 64 pp.

ULLSTRUP, A.J. 1941a. Two physiologic races of Helminthosporium maydis in the corn belt. Phytopathology, St. Paul, Minnesota, 31:508-521.

ULLSTRUP, A.J. 1941b. Inheritance of susceptibility to infection by Helminthosporium maydis race 1 in mayze. Jour. Agric. Research, Washington, 63:331-334.

ULLSTRUP, A.J. 1944. Further studies on a species of Helminthosporium parasitizing corn. Phytopathology, St. Paul, Minnesota, 34:214-222.

ULLSTRUP, A.J. 1954a. Variations within species of Helminthosporium. Pl. Dis. Reporter Suppl. 228:116-117

ULLSTRUP, A.J. 1954b. Helminthosporium diseases on corn. Pl. Dis. Reporter, Beltsville, Maryland, 228:118-119.

ULLSTRUP, A.J. e ARTHUR M. BRUNSON, 1947. Linkage relationships of a gene in corn determining susceptibility to a Helminthosporium leaf spot. Jour. Amer. Soc. Agronomy, 39:606-609

ULLSTRUP, A.J. e S.R. MILES, 1957. The effects of some leaf blights of corn on grain yield. Phytopathology, St. Paul, Minnesota, 47:331-336.

Van der PLANK, J.E. 1975. Principles of plant infection. Academic Press, N.Y. 216 pp.

10. APÊNDICE

Tabela I. Análise da variância para tamanhos das lesões formadas por H. carbonum em linhagens e híbridos F1 de milho resultantes de cruzamentos entre linhagens resistentes e suscetíveis. Experimento de campo.

Causas de Variação	Gl	SQ	QM	F
Tratamentos	10	101,652	10,165	35,290**
Resíduo	22	6,337	0,288	
Total	32	107,989		

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade

C.V. = 17,40%

Tabela II. Análise de variância para tamanhos das lesões formadas por H. carbonum em linhagens e híbridos F1 de milho resultantes do cruzamento entre linhagens resistentes e suscetíveis. Experimento de casa de vegetação.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
tratamentos	13	83,955	6,458	27,681**
Resíduos	28	6,532	0,233	
Total	41	90,487		

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade

C.V. = 16,57%

Tabela III. Análise de variância para tamanho de lesões formadas na linhagem 929-B5 por isolados de H. carbonum provenientes de lesões grandes (Grupo G) e pequenas (Grupo P), após passagens seriadas na linhagem 929-B5.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Isolados do grupo G	4	1,894	0,473	0,739
Isolados do grupo P	4	13,441	3,360	5,243*
Entre G e P	1	15,611	15,611	24,360**
Isolados	9	30,946	3,438	5,365**
Resíduo	10	6,409	0,641	
Total	19	37,355		

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade
** Significativo ao nível de 1% de probabilidade

C.V. = 7,94%

Tabela IV. Análise da variância para tamanho de lesões formadas na linhagem 929-B5 por isolados de H. carbonum provenientes de lesões grandes (Grupo G), e pequenas (Grupo P), após passagens seriadas na linhagem 20A-2.

Causas da Variação	GL	SQ	QM	F
Isolado do Grupo G	4	6,883	1,721	1,259
Isolados do Grupo P	4	18,487	4,622	3,381
Entre G e P	1	8,924	8,924	6,529*
Isolados	9	34,294	3,810	2,878
Resíduo	10	13,668	1,367	
Total	19	47,962		

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade

C.V. = 11,97%