

GRAUS DE SUSCETIBILIDADE A *Helminthosporium turcicum*
PASS. EM PROGÊNIES DE MILHO DA
CULTIVAR PIRAPOCA AMARELA

AUGUSTO BABILONIA RAMIREZ

Orientador: Prof. Dr. ERIC BALMER

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

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Julho - 1986

À
memoria de meu pai LUÍS A.
e minha tia LAURA ESTHER,

à
minha mãe e irmãos,

meu reconhecimento.

À
minha esposa AYLI
e meus filhos,
dedico.

AGRADECIMENTOS

O autor expressa seus agradecimentos a todos os que colaboraram na realização deste trabalho:

- A Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" da Universidade de São Paulo (ESALQ-USP)-Brasil, e à Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (UNAP)-Iquitos-Perú, pela oportunidade de aperfeiçoamento proporcionado.

- Ao Departamento de Fitopatologia da ESALQ/USP, que possibilitou a participação no Curso de Pós-Graduação e facilidades concedidas durante o curso e execução deste trabalho.

- Aos professores do Departamento de Fitopatologia da ESALQ/USP, principalmente ao Dr. ERIC BALMER, pela orientação, apoio e valiosas sugestões durante o desenvolvimento da presente pesquisa.

- Ao Dr. JOÃO RUBENS ZINSLY, do Departamento de Genética, pelo fornecimento das sementes da cultivar "Pirapoca amarela".

- Ao Dr. DÉCIO BARBIN, do Departamento de Matemática e Estatística pelas valiosas sugestões apresentadas.

- A meus colegas do Curso de Pós-Graduação e em especial ao Engº Agrº RUDECINDO VÁZQUEZ BÓVEDA, pelo apoio, estímulo e amizade.

- A meu colega e amigo Engº Agrº JERÓNIMO GARCÍA V., pela colaboração dispensada.

- Ao servidor PEDRO DA SILVA, pela ajuda prestada durante a realização dos experimentos e aos demais funcionários do Departamento de Fitopatologia que, direta ou indiretamente, tenham contribuído para a realização deste trabalho.

	<u>Página</u>
RESUMO	vi
SUMMARY	viii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
3. MATERIAIS E MÉTODOS	12
3.1. Progênes de Milho Utilizadas	12
3.2. Preservação do Patógeno	12
3.3. Isolamento de Patógeno, Obtenção e Padroni- zação do Inóculo	13
3.4. Inoculação e Manutenção das Plantas	14
3.5. Avaliação das Reações de Progênes a <i>H. tur-</i> <i>cicum</i>	15
3.5.1. Tipos de reação	15
3.5.2. Comprimento médio das lesões	18
3.5.3. Largura média das lesões	18
3.5.4. Esporulação do patógeno sobre lesões	19
3.6. Delineamento Experimental e Análise Estatís- ca	20
3.7. Especificação dos Experimentos-Generalida- des	21
3.7.1. Experimentos em casa-de-vegetação	22
3.7.2. Esporulação do patógeno sobre segmen- tos de folha	22
4. RESULTADOS	24
4.1. Reações de Progênes a <i>H. turcicum</i>	24
4.1.1. Tipos de reação	24
4.1.2. Comprimento médio das lesões	31
4.1.3. Larguras médias das lesões	35
4.1.4. Análise de regressão e correlação li- near	39

	<u>Página</u>
4.2. Esporulação do Patógeno sobre Lesões em Seg- mentos de Folhas	41
5. DISCUSSÃO	43
5.1. Reação de Progênes	43
5.2. Comprimento e Largura das Lesões	46
5.3. Relações entre Parâmetros	47
5.4. Esporulação do Patógeno sobre Lesões e Con- siderações Finais	48
6. CONCLUSÕES	51
7. LITERATURA CITADA	53
APÊNDICE	59

ÍNDICE DE TABELASPágina

Tabela 1.	Composição percentual para os diferentes tipos de reação a <i>H. turcicum</i> em seleções fietas na cultivar Pirapoca-amarela	25
Tabela 2.	Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, para comparações entre médias para tipos de reação a <i>H. turcicum</i> , no experimento I.	27
Tabela 3.	Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, para comparações entre médias para tipos de reação a <i>H. turcicum</i> , no experimento III.	28
Tabela 4.	Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, para comparações entre médias para tipos de reação a <i>H. turcicum</i> , no experimento IV.	29
Tabela 5.	Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, para comparações entre médias para tipos de reação a <i>H. turcicum</i> , no experimento V.	30
Tabela 6.	Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, para comparações entre médias para comprimento de lesão causadas por <i>H. turcicum</i> , em cm, no experimento III .	32
Tabela 7.	Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, para comparações entre médias para comprimento de lesões causadas por <i>H. turcicum</i> , em cm, no experimento IV	33
Tabela 8.	Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, para comparação entre médias para comprimento de lesões causadas por <i>H. turcicum</i> , em cm, no experimento V.	34

Tabela 9.	Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, para comparação entre médias para largura das lesões causadas por <i>H. turcicum</i> , em mm, no experimento III. . .	36
Tabela 10.	Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, para comparação entre médias para largura das lesões causadas por <i>H. turcicum</i> , em mm, no experimento V. . . .	37
Tabela 11.	Relações entre parâmetros estudados e graus de associação observados para o experimento III.	40
Tabela 12.	Relação entre parâmetros estudados e grau de associação observado para o experimento IV	40
Tabela 13.	Relações entre parâmetros e graus de associação observados no experimento V . .	41
Tabela 14.	Esporulação do patógeno sobre lesões de diferentes tipos de reação em diferentes seleções	42

APÊNDICE

	<u>Página</u>
Tabela 1. Análise da variância para tipos de reação a <i>H. turcicum</i> em plantas de milho observados no experimento I.	I
Tabela 2. Análise da variância para tipos de reação a <i>H. turcicum</i> em plantas de milho observados no experimento III	I
Tabela 3. Análise da variância para tipos de reação a <i>H. turcicum</i> em plantas de milho observados no experimento IV.	II
Tabela 4. Análise da variância para tipos de reação a <i>H. turcicum</i> em plantas de milho observados no experimento V	II
Tabela 5. Análise da variância para comprimento médio das lesões causadas por <i>H. turcicum</i> , em cm, em plantas de milho, no experimento III	III
Tabela 6. Análise da variância para comprimento médio das lesões causadas por <i>H. turcicum</i> , em cm, em plantas de milho, no experimento IV.	III
Tabela 7. Análise da variância para comprimento médio das lesões causadas por <i>H. turcicum</i> em plantas de milho, em cm, no experimento V.	IV
Tabela 8. Análise da variância para a largura média das lesões causadas por <i>H. turcicum</i> em plantas de milho, em mm, no experimento III.	IV
Tabela 9. Análise da variância para a largura média das lesões causadas por <i>H. turcicum</i> em plantas de milho, em mm, no experimento V	V

RESUMO

Em condições de casa-de-vegetação, através dos parâmetros tipo de reação, comprimento e largura das lesões, foram avaliadas, 14 dias após a inoculação das plantas no estágio de desenvolvimento correspondente a 4 ou 5 folhas verdadeiras, progênies de milho pipoca, da cultivar Pirapoca-amarela, obtidas após um ciclo de seleção para menor suscetibilidade a *H. turcicum*, sob condições epidêmicas artificialmente induzidas no campo.

A utilização dos parâmetros tipo de reação, comprimento e largura das lesões permitiu detectar diferentes graus de suscetibilidade das progênies a *H. turcicum*, sendo possível a identificação de dois grupos de progênies com uma reação mais estável, respectivamente, para maior e menor suscetibilidade, em todos os experimentos.

Com base nos parâmetros utilizados, houve progênies que apresentaram uma reação intermediária aos dois grupos acima mencionados, havendo também, aquelas que apresentavam

comportamentos mais erráticos nos experimentos realizados em diferentes épocas do ano.

Nos experimentos realizados, foi observada uma alta correlação entre os parâmetros tipo de reação, comprimento e largura das lesões.

Em reações típicas para diferentes graus de suscetibilidade, foi possível verificar um efeito do tipo de reação, lesões necróticas, sobre o tempo necessário para a formação dos esporos sobre as lesões mantidas em câmara úmida, em condições de laboratório.

DEGREES OF SUSCEPTIBILITY TO *HELMINTHOSPORIUM TURCICUM* PASS.
IN POP-CORN PROGENIES OF THE PIRAPOCA-AMARELA CULTIVAR.

Augusto Babilonia Ramirez

Eric Balmer - Adviser

SUMMARY

Progenies of pop corn of the Pirapoca-amarela cultivar, obtained after one cycle of selection under *Helminthosporium turcicum* epidemic field conditions, artificially induced, were evaluated for the degree of susceptibility, considering the reaction type, length and width of the lesions.

Seedlings at the four to five leaf stage of development, under green house conditions, were inoculated with a spore suspension of *H. turcicum* placed in the leaf whorl of the plants, being the evaluations for reaction type, length and width of the lesions made 14 days later.

By using the different parameters, it was possible to detect different degrees of susceptibility among the 20 progenies tested. It was possible to detect progenies with more stable reactions for higher and lower degrees of susceptibility to *H. turcicum*, while other progenies showed a higher degree of variation among the different experiments carried out.

In the experiments conducted it was possible to observe a good correlation among the parameters used for measuring degrees of susceptibility to *H. turcicum*.

Sporulation of *H. turcicum* on lesions of detached leaf segments maintained under high moisture conditions in the laboratory was influenced by the type of reaction. A delay in sporulation was observed on the smaller lesions when compared with the sporulation observed on the larger ones.

1. INTRODUÇÃO

O milho pipoca, como os demais tipos de milho, pertence à espécie botânica *Zea mays* L., caracterizando-se por apresentar sementes duras e pequenas que sob a ação do calor "estouram", originando a pipoca. A característica de pipocamento constitui a diferença básica entre esse e os outros tipos de milho, a parte da maciez e sabor (ZINSLY e MACHADO, 1978). Utilizado desde muito tempo pelos indígenas como fonte de alimento está muito ligado à tradição popular, tem na atualidade muita demanda e exigências em qualidade por parte do mercado consumidor.

À medida em que se melhora a técnica de produção desta cultura, prejuízos devidos a doenças poderão ocorrer em consequência de quebra do equilíbrio biológico entre planta e patógenos:

Como todo tipo de milho, o milho pipoca está sujeito a uma série de doenças entre as quais se destaca a "queima" das folhas causada por *Helminthosporium turcicum* Pass. que

é considerada como uma doença de importância econômica, pois aparece em todas as regiões do Brasil onde se planta o milho, ocorrendo com maior severidade, principalmente, em condições quando ocorrem simultaneamente alta umidade e temperaturas relativamente baixas (18 a 27°C), durante o desenvolvimento da planta. Quando a infecção ocorre por ocasião do florescimento da flor feminina e as condições são favoráveis, a doença pode causar vultuosos prejuízos econômicos. CHENULULU e HORA (1962) afirmam que as perdas na produção devidas a esta doença variam de 27,6 a 90,7%, dependendo da intensidade da infecção.

No Brasil, dentre as doenças que podem limitar a produção de milho pipoca e milhos comuns, a "mancha" ou "queima" das folhas, causada por *Helminthosporium turcicum*, pode causar sérios prejuízos, se variedades ou híbridos suscetíveis forem cultivados em condições de ambiente favoráveis ao patógeno (BALMER, 1978). Assim, é de grande interesse para os melhoristas a avaliação de seus materiais para a reação a este patógeno na produção de cultivares a serem liberados aos produtores.

Vários trabalhos revelaram a existência de diferentes fontes de resistência a *Helminthosporium turcicum* em plantas de milho, destacando-se entre elas aqueles condicionados por genes Ht. O uso de híbridos e cultivares resistentes a patógenos é o método de controle mais econômico para doenças, tornando-se indispensável para isso o conhecimento dos diferentes tipos de resistência nos hospedeiros existentes ao patógeno.

O melhor conhecimento do mecanismo da resistên -
cia existente em material genético se constitui numa medida bá
sica no melhoramento visando a produção de cultivares resistentes
a patógenos.

Com base na importância da cultura do milho pipo
ca e da "queima" das folhas causada por *H. turcicum*, o presente
trabalho teve como objetivo avaliar, em condições de casa-
de-vegetação, o efeito que um ciclo de seleção recorrente feno
típica, para menor suscetibilidade a *H. turcicum*, tem sobre a
severidade da doença, tamanhos da lesão e esporulação do pató-
geno em material selecionado.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A cultura do milho pipoca é afetada por diversas doenças, sendo seriamente prejudicada pela "queima" das folhas causada por *Helminthosporium turcicum* Pass. No Brasil, o patógeno foi citado pela primeira vez por VIEGAS (1946).

ISSA (1983) menciona que a "queima" das folhas do milho é uma doença importante para o milho pipoca no Brasil. A doença aparece frequentemente em plantas jovens de milho, necrosando grandes áreas das folhas, a partir das folhas inferiores, passando, a seguir, para as folhas superiores à medida em que as plantas se desenvolvem, podendo chegar, a atingir inclusive as folhas que se formam acima da espiga.

ULLSTRUP (1952) observou que a "queima" das folhas de milho ou helminthosporiose pode reduzir a produção e a qualidade de uma lavoura, em zonas onde se registram alta umidade e moderada temperatura durante o período de cultivo, principalmente, quando a infecção coincide com a época de floração. Isto está de acordo com ELLIOT e JENKINS (1946), e BALMER

(1980) que mencionam que a doença pode causar sérios prejuízos quando ocorre antes do florescimento ou embonecamento. Caso a ocorrência da doença se dê próxima a maturação, as perdas podem ser menores.

Segundo HUGHES e HOOKER (1971), as perdas na produção do milho por esta doença, em condições de severa epidemia, podem causar reduções na produção em mais de 50%. Os experimentos de ULLSTRUP e MILES (1957), para os efeitos da "queima" das folhas do milho causada por *H. turcicum*, revelaram que, para condições severas de doença, o híbrido mais resistente ao patógeno produziu 5000 kg/ha a mais que o híbrido mais suscetível, entretanto, na ausência do patógeno, híbridos suscetíveis podem produzir mais que híbridos resistentes.

Com relação à interação de *H. turcicum* com outros patógenos, HOOKER e KIM (1973) observaram que em plantas atacadas por *H. turcicum*, além da redução que pode ocorrer na área fotossintética da planta, o dano causado pelo patógeno pode predispor as plantas a podridões de raízes e do colmo, resultando conseqüentemente no acamamento destas. RAYMUNDO (1981), concordando com os autores acima mencionados, afirma que algumas perdas que ocorrem no campo seriam o resultado de efeitos combinados da "queima" das folhas, causada por *H. turcicum*, e morte prematura da planta por podridão do colmo.

DODD (1980), estudando a incidência de podridão de colmo em híbridos com e sem a proteção do gene Ht, verificou que o material suscetível, quando inoculado com *H. turci* -

cum, resultou numa incidência de 93% de plantas com podridão de colmo, enquanto que em material possuidor de gene Ht, testado nas mesmas condições, a podridão de colmo variou de 0 a 3%.

Para verificar a variabilidade do comportamento de 4 linhagens de milho riograndense, e 4 americanas frente ao inóculo proveniente de cinco isolamentos de *H. turcicum*, ALMEIDA e HEIDRICH-SOBRINHO (1978), num experimento desenvolvido em condições de casa-de-vegetação, observaram uma pequena variação no comportamento das diversas linhagens testadas. A linhagem Pelotas 36 revelou-se como suscetível, enquanto que a linhagem K64 HtN, americana, apresentou uma resistência, condicionada pelo gene Ht, para todos os isolamentos utilizados. Com exceção da linhagem 201-32, riograndense, que apresentou característica de resistência para três isolados e suscetibilidade para dois, as cinco linhagens restantes apresentaram variação em apenas um dos cinco resultados com relação aos isolados testados. Os mesmos autores concluíram que não foi possível caracterizar a existência de raças de *H. turcicum*.

Estudando as reações para isolados monoconidiais de *Trichometasphaeria turcica*, de 5 regiões do Estado do Rio Grande do Sul (Brasil), usados para testar a patogenicidade em plântulas de linhagens de milho, HEIDRICH-SOBRINHO e HERMES (1981) encontraram uma diversidade na virulência dos 5 isolados em relação às vinte linhagens, sugerindo diferenças genéticas entre eles e a ocorrência de especialização fisiológica principalmente no isolado 20 em relação às linhagens LT-79

(brasileira), B1138T, NH14A e K64HtN (norteamericanas).

Em testes de resistência que foram conduzidos em casa-de-vegetação, ALMEIDA (1974), visando testar a resistência a *H. turcicum* em plântulas de milho, observou que na primeira e terceira repetições todos os híbridos apresentaram características de resistência. Na segunda repetição, porém os híbridos SAVE-231 e C-428 apresentaram algumas características de suscetibilidade. Entre as linhagens testadas somente a M719 se comportou como suscetível. O autor concluiu mencionando que, tanto nos híbridos como nas linhagens, foi verificada uma diferença significativa no grau de infecção apresentada.

Com relação à manifestação da resistência por parte do hospedeiro, vários trabalhos têm demonstrado a existência de diferentes tipos de resistência em milho a *H. turcicum*. Assim, JENKINS et alii (1952) detectaram que muitos gens estão envolvidos na resistência de plantas de milho a *H. turcicum*, alguns com maior efeito que outros. Posteriormente, JENKINS e ROBERT (1961) relataram a ocorrência de dois tipos de resistência, a poligênica e a monogênica, esta última condicionada pelo gene Ht.

Segundo HILU e HOOKER (1965), a resistência poligênica ou horizontal se manifesta por um menor número de lesões, de tamanho também menor e com esporulação suportável pelo hospedeiro, em condições de umidade e temperatura favoráveis.

Na resistência monogênica, observada em 1959 em milho pipoca americano, cultivar "Lady finger", conforme mencionado por ULLSTRUP (1970) o gene para este tipo de resistência foi designado com o símbolo Ht. HILU e HOOKER (1962), mencionam que a resistência monogênica é expressa por lesões cloróticas, com margens amareladas. O mesmo relato foi feito por HOOKER (1963), que mencionou ser a resistência monogênica condicionada pelo gene Ht, caracterizando-se a reação por lesões necróticas circundadas por um extenso halo clorótico.

HOOKER et alii (1964) observaram fontes de resistência na forma de lesões cloróticas em materiais de diferentes origens em linhagens de vários tipos de endospermas (milho dentado, doce e pipoca).

Um novo gene de resistência foi identificado por GEVERS (1975) que o denominou de HtN. Posteriormente, em experimentos realizados sobre o efeito do gene HtN no desenvolvimento da epidemia da "queima" das folhas de milho causado por *H. turcicum*, RAYMUNDO et alii (1981) mencionaram que o gene HtN confere uma resistência a *H. turcicum* caracterizada por um prolongado tempo de incubação, não somente retardando o aparecimento da epidemia, mas, também, afetando drasticamente a viabilidade da inoculação.

Em experimentos realizados com 84 linhagens de milho inoculadas com 3 isolados de *H. turcicum*, PERKINS (1981) observou reações do tipo lesão clorótica, que foi a mais comum,

ocorrendo variações em graus de necrose, sendo também verificadas no material as reações de suscetibilidade a *H. turcicum*. O gene HtN condicionou resistência do tipo lesão clorótica a *H. turcicum*, sendo que o grau expresso variou entre as 84 linhagens de milho testados.

HOOKER, ... (1977 e 1978) identificou, posteriormente, novas fontes de resistência monogênica a *H. turcicum* em seus trabalhos. Assim, trabalhando na caracterização da resistência monogênica em linhagens GE 440 e no cultivar milho pipoca "Lady finger", HOOKER (1980) detectou que a fonte de resistência expressa na forma de lesão clorótica é frequentemente dominante e monogênica na herança.

Visando detectar fontes de resistência e tipos de reação a *H. turcicum*, FROSI e BALMER (1980), ao estudar o comportamento de linhagens de milho, observaram diferentes graus de resistência, como, também, uma variação na reação ao patógeno dentro das linhagens estudadas.

Os estudos de ULLSTRUP (1970) sugerem que o gene Ht confere uma menor proteção ao hospedeiro quando comparado com o sistema poligênico nas mesmas condições da cultura, considerando que a área necrosada numa planta com resistência monogênica é menor que aquela que ocorre em uma planta com resistência poligênica, porém a combinação da pequena área necrosada com aquela correspondente aos grandes halos cloróticos na reação clorótica apresenta, frequentemente, uma extensão maior que a área necrosada em plantas com resistência poligênica.

Com relação à variabilidade do patógeno no que concerne a sua patogenicidade, BERGQUIST e MASIAS (1974), relataram a ocorrência das raças 1 e 2 de *H. turcicum* (= *T. turcica* f. sp. *zeae*), no Hawaí, com base na reação das plantas com resistência monogênica.

Quanto à esporulação do patógeno sobre lesões, El-Shafey et alii, citados por ALMEIDA et alii (1978), trabalhando com 10 linhagens de milho, em condições de campo, que foram inoculadas com uma suspensão de esporos de *H. turcicum*, observaram uma forma clorótica de resistência, com lesões alongadas e estreitas, que apresentam uma baixa esporulação do agente causal nas lesões com relação ao início da esporulação.

HILU e HOOKER (1963) verificaram que a esporulação de *H. turcicum* sobre lesões do tipo resistente era retardada quando comparada com aquela que ocorria sobre lesões de tipo suscetível.

Em linhagens de dois compostos de milho, FROSI (1978), avaliando o comportamento de linhagens resistentes a *H. turcicum*, em condições de casa-de-vegetação e laboratório, observou lesões cloróticas com centro necrótico nas quais não se formaram conídios até 96 horas após da coloração de segmentos de folhas em câmara úmida.

Com relação ao efeito do ambiente na manifestação da doença, ULLSTRUP (1967) menciona que a ocorrência da "mancha" das folhas de milho varia em persistência e severida-

de de um ano para outro e de uma localidade a outra, dependendo principalmente das condições de ambiente. Menciona, também, que o tempo úmido acompanhado de forte orvalho favorece a dispersão e desenvolvimento da doença causada por *H. turcicum*, tanto em solos pobres como ricos, sendo que a fertilidade do solo não afeta tanto a doença como as condições de ambiente e a constituição genética da planta. Estes fatos também foram verificados por ROBERT e JENKINS (1949).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Progênes de Milho Utilizadas

Foram utilizados, no presente estudo, 20 progênes de meios irmãos, tomadas ao acaso na população selecionada, resultante da seleção na cultivar Pirapoca-amarela, do Instituto de Genética da ESALQ, submetidas a condições de uma epidemia severa de *H. turcicum*, induzida artificialmente, para a seleção das plantas menos suscetíveis ao patógeno. Como testemunha, foi utilizada uma amostra da população Pirapoca-amarela correspondente ao tratamento n° 21.

3.2. Preservação do Patógeno

Por períodos longos, a preservação do patógeno, *H. turcicum*, foi feita em material vegetal herbarizado e conservado à temperatura de câmara fria a 12°C. Este material serviu para a obtenção de culturas puras do patógeno sempre que necessário, evitando-se o cultivo continuado em meio de cultura.

Para períodos curtos de manutenção, o patógeno foi mantido em meio de lactose-caseína-hidrolizado-ágar (LCH), segundo Malca e Ullstrup, citados por TUIE (1969).

3.3. Isolamento do Patógeno, Obtenção e Padronização do Inóculo

O isolamento do fungo *Helminthosporium turcicum* Pass foi feito a partir das lesões em tecido foliar. Os tecidos foliares contendo as lesões foram desinfectados superficialmente, durante 1 minuto, com uma solução comercial de hipoclorito de sódio, contendo 5% de cloro ativo, diluída na proporção de uma parte do produto comercial para três partes de água. Os tecidos, assim tratados, foram colocados, assepticamente, em placas de Petri contendo papel de filtro umedecido com água destilada e deixadas durante uma semana em condições de ambiente para a esporulação do patógeno sobre as lesões.

Após a esporulação do patógeno sobre as lesões, conídios foram transferidos, assepticamente, das câmaras úmidas em placas de Petri para placas de Petri contendo o meio de lactose-caseína-hidrolizado-ágar (LCH), sendo, a seguir, mantidas a uma temperatura de 25 a 28°C, na ausência de luz, por 10 dias.

Para a obtenção do inóculo a ser utilizado em inoculações de plantas jovens em condições de casa-de-vegeta -

ção, foram adicionadas a cada placa de Petri, contendo o meio de LCH e as culturas puras de *H. turcicum*, 10 ml de água destilada esterilizada, desalojando-se os conídios dos conidióforos com pincel de pelos finos. A suspensão assim preparada foi filtrada numa camada dupla de gase, com a finalidade de remover os fragmentos do meio de cultura e reduzir a quantidade de micélio em suspensão.

A concentração de conídios na suspensão foi ajustada para $4,0 \times 10^3$ conídios/ml, mediante o uso de um hemacitômetro tipo Neubauer. Visando uma distribuição mais homogênea dos conídios na suspensão, a este foi adicionado o espalhante Tween 80, na razão de uma gota do produto para cada 100 ml da suspensão de conídios.

3.4. Inoculação e Manutenção das Plantas

Para os testes de patogenicidade realizados em condições de casa-de-vegetação, plantas, num estágio de desenvolvimento correspondente a 4 ou 5 folhas verdadeiras, foram inoculadas, colocando-se 0,5 ml do inóculo, suspensão de conídios, no cartucho de cada planta. Este método de inoculação foi utilizado em todos os experimentos realizados.

Plantas da cultivar Pirapoca-amarela, utilizadas como controle para contaminações, não receberam o inóculo, suspensão de conídios, recebendo, no entanto, 0,5 ml de água destilada esterilizada que foram colocados no cartucho de

cada planta. Após a inoculação, as plantas inoculadas como as não inoculadas foram mantidas em condições de ambiente de casa de-vegetação.

Duas vezes por semana, após a inoculação, cada vaso foi regado com uma solução nutritiva de Greenzite-A, visando-se manter as plantas em bom estado vegetativo. Também, foram feitas pulverizações com inseticida Rhodiatox-60, sempre que se notava o aparecimento de trips nas plantas.

3.5. Avaliação das Reações de Progenies a *H. turcicum*

A avaliação das reações das plantas dos diferentes patógenos, em condições de casa-de-vegetação, foi feita 14 dias após a inoculação, sendo utilizados os parâmetros mencionados abaixo.

3.5.1: Tipos de reação

Como tipos de reação foram considerados os diferentes sintomas apresentados pelas plantas inoculadas, sendo sua avaliação feita com base na manifestação de sintomas, conforme escalas de notas apresentadas a seguir.

Escala de Notas Inicial (utilizado no experimento - 1)

<u>Tipos de reação</u>	<u>Nota</u>	<u>Descrição</u>
L	1	Planta limpa, não apresentando lesão alguma.
Susc. 1	2	Lesão necrótica estreita, extremidades das lesões mais estreitas, apresentando diferença nítida entre tecido morto e sa <u>do</u> .
Susc. 2	3	Lesão necrótica típica causada por <i>H. tur<u>icum</u></i> , sendo as extremidades das lesões arredondadas, ocorrência de lesões con <u>fluentes</u> , bordos laterais da lesão irregulares, sem "queima" de áreas do tecido foliar.
Susc. 3	4	Lesões necróticas, grandes com crestamen <u>to</u> do tecido foliar, algumas plantas apresentando queima na parte apical da fo <u>lha</u> .

Escala de Notas Modificada (utilizado nos experimentos 2,3,4,5)

<u>Tipos de reação</u>	<u>Nota</u>	<u>Descrição</u>
L	1	Planta limpa, não apresentando lesão alguma, podendo apresentar pontos cloróticos.
Susc. 1	2	Lesão necrótica estreita, bordos das lesões bem definidos, algumas plantas apresentando lesões com halos cloróticos;
Susc. 2	3	Lesão necrótica típica para <i>H. turci-cum</i> de tamanho médio, com bordos irregulares, podendo apresentar certo encharcamento nas partes extremas das lesões, sem crestamento, podendo ter lesões confluentes;
Susc. 3	4	Lesão necrótica grande, bordos irregulares apresentando as plantas murcha dos tecidos e quantidade considerável de tecido necrosado - "queima" das folhas

3.5.2. Comprimento médio das lesões

A avaliação das reações com base no comprimento das lesões foi feita de duas modalidades. Na primeira, experimento 3, o comprimento médio, em cm, foi calculado em função dos comprimentos da maior lesão em duas folhas inoculadas, em cada uma das 5 plantas da parcela.

A outra modalidade, utilizada nos experimentos 4 e 5, consistiu na avaliação do comprimento médio da lesão, em cm, considerando-se para tanto a maior lesão observada em cada uma das 5 plantas da parcela.

3.5.3. Largura média das lesões

A reação das plantas, com base na largura das lesões, foi avaliada, à semelhança do já descrito para comprimento de lesões, de duas formas.

No experimento 3, a largura média das lesões, em mm, foi calculada considerando a largura da maior lesão nas duas folhas inoculadas em cada uma das 5 plantas da parcela, enquanto que, para o experimento 5, a largura média foi calculada com base na largura da maior lesão observada em cada uma das cinco plantas da parcela.

3.5.4. Esporulação do patógeno sobre lesões

A avaliação da esporulação do patógeno sobre lesões, como possível característica associada a diferentes tipos de reação, foi feita colocando-se segmentos de folhas contendo lesões, coletadas das plantas inoculadas, em placas de Petri contendo papel de filtro umedecida, separadamente para cada combinação hospedeiro e tipo de reação.

As avaliações foram feitas em períodos de 24 horas, correspondendo elas a avaliações feitas 24, 48, 72 e 96 horas após a colocação dos segmentos foliares em condições de câmara úmida em placas de Petri.

O critério utilizado para a avaliação de fases na produção de conídios e intensidade de esporulação é apresentado a seguir juntamente com a respectiva legenda.

- ° Sem formação de conidióforos
- °° Início de formação de conidióforos
- Sem esporulação
- + Esporulação fraca
- ++ Boa esporulação
- +++ Abundante esporulação na lesão e tecido adjacente

3.6. Delineamento Experimental e Análise Estatística

O delineamento experimental utilizado foi o de bloco ao acaso com 3 repetições, sendo a parcela constituída por um vaso com 5 plantas.

Quanto aos tipos de reação, a análise de variância se baseou nos valores (notas) atribuídos aos diferentes tipos de reação.

No que concerne ao comprimento e largura média das lesões, a análise de variância se baseou no valor médio obtido para a parcela.

Para fins de comparação entre as médias, foi utilizado o teste de Tukey.

A análise da regressão linear foi baseada nas médias obtidas para os diferentes parâmetros avaliados, i.é., tipos de reação, comprimento e largura média das lesões

Procedeu-se a realizar a análise estatística de regressão e correlação linear para os experimentos 3, 4 e 5, dada para a seguinte expressão: $y = a + bx$.

As relações entre os diferentes parâmetros utilizados no estudo da regressão linear e da correlação nos diferentes experimentos são apresentados a seguir:

a) nos experimentos 3 e 5, foram analisadas as relações existentes entre:

- a.1. comprimento médio (y) e largura média (x)
- a.2. nota (y) e largura média (x)
- a.3. nota (y) e comprimento médio (x).

b) no experimento 4, foi avaliada a relação existente entre

Nota (y) e comprimento médio (x).

3.7. Especificação dos Experimentos - Generalidades

Os experimentos foram realizados em condições de casa-de-vegetação, no laboratório experimental do Departamento de Fitopatologia da ESALQ/USP. Os experimentos foram repetidos em épocas diferentes, conforme é apresentado a seguir:

Experimentos	Datas	
	semeadura	avaliação
1	19-04-85	03-05-85
2	10-06-85	24-06-85
3	13-09-85	27-09-85
4	13-11-85	27-11-85
5	06-02-86	20-02-86

3.7.1. Experimentos em casa-de-vegetação

As sementes das diferentes progênies foram semeadas em condições de casa-de-vegetação, em vasos de alumínio contendo solo previamente esterilizado, sendo semeadas dez sementes por vaso, realizando-se um desbaste após a emergência, deixando-se as 5 plântulas mais vigorosas, sem, no entanto, fazer qualquer seleção relacionada a reação a *H. turcicum*, uma vez que não havia qualquer reação ao patógeno apresentada pelas plantas na ocasião.

A inoculação foi feita em plântulas no estágio de 4 a 5 folhas verdadeiras, colocando-se 0,5 ml da suspensão conidial no cartucho.

3.7.2. Esporulação do patógeno sobre segmentos de folha

Após avaliação da reação das plantas nos testes de patogenicidade, em condições de casa-de-vegetação, foram coletadas folhas com os diferentes tipos de reação, sendo estes em seguida, acondicionados em saquinhos de polietileno e levados ao laboratório.

As folhas coletadas foram cortadas em segmentos, de aproximadamente 3 cm de comprimento, que continham as lesões induzidas pelo patógeno. Os segmentos de folhas foram desinfectados superficialmente pela imersão destes numa solução comercial de hipoclorito de sódio, contendo aproximadamente 1,2% de cloro ativo, durante um minuto.

Posteriormente, os segmentos de folhas contendo as lesões foram transferidas, assepticamente, para condições de câmara úmida em placas de Petri, contendo papel de filtro esterilizado previamente umedecido com 2 ml de água estéril, colocando-se 3 segmentos de folhas por placa, que foram mantidos em condições de ambiente de laboratório.

4. RESULTADOS

4.1. Reações de Progenies a *H. turcicum*

4.1.1. Tipos de reação

Composição porcentual média para os diferentes tipos de reação nas progenies.

A composição porcentual média para os diferentes tipos de reação, nas diferentes progenies, nos experimentos I, III, IV, V, é apresentada na Tabela 1.

Tabela 1. Composição percentual para os diferentes tipos de reação a *H. turcicum* em seleções feitas na cultivar Pirapoca-amarela.

Seleções	Nº plantas Testadas *	Porcentagens para os tipos de reação			
		L	Susc.1	Susc.2	Susc.3
1	57	1,75	1,75	49,12	47,36
2	58	5,17	22,41	67,24	5,17
3	52	1,92	11,53	51,92	34,61
4	57	0,0	22,80	56,14	21,05
5	56	1,78	12,50	64,28	19,64
6	60	0,0	16,66	56,66	26,66
7	59	10,16	32,20	50,84	6,77
8	58	13,79	27,58	56,89	0,0
9	58	13,79	31,03	51,72	5,17
10	58	3,44	6,89	67,24	22,41
11	59	0,0	10,16	74,57	18,64
12	58	5,17	15,51	58,62	20,68
13	59	16,94	30,50	47,45	5,08
14	55	7,27	9,09	63,63	18,18
15	58	0,0	27,58	62,06	10,34
16	59	10,16	18,64	62,71	8,47
17	52	11,53	28,84	42,30	17,30
18	57	3,50	5,26	66,66	24,56
19	58	3,44	22,41	62,06	12,06
20	59	3,38	15,25	61,01	16,94
21 (T)	39	2,56	2,56	58,97	38,46

* Número de plantas avaliadas em 4 experimentos.

Análise de variância e comparação entre médias para tipos de reação.

As análises da variância para tipos de reação observados nos experimentos I, III, IV e V são apresentadas, respectivamente, nas Tabelas 1, 2, 3 e 4 do Apêndice, tendo elas revelado diferenças significativas entre tratamentos.

As comparações entre médias envolvendo os diferentes tipos de reação, para os diferentes tratamentos, pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, para os experimentos I, III, IV e V, são apresentadas, respectivamente, nas Tabelas 2, 3, 4 e 5.

Tabela 2. Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, para comparações entre médias para tipos de reação a *H. turcicum*, no experimento I.

Tratamento N°	Médias
1	3,5
18	3,2
3	3,1
11	3,1
5	2,8
6	2,8
20	2,8
4	2,8
10	2,7
12	2,6
17	2,6
15	2,5
14	2,5
2	2,4
16	2,4
13	2,2
7	2,2
8	2,2
19	2,0
9	1,8

Diagrama de Tukey para o teste de comparação de médias:

As médias e as letras de agrupamento são:

- 3,5 (nenhuma letra)
- 3,2 (nenhuma letra)
- 3,1 (nenhuma letra)
- 3,1 (nenhuma letra)
- 2,8 (nenhuma letra)
- 2,7 (nenhuma letra)
- 2,6 (nenhuma letra)
- 2,6 (nenhuma letra)
- 2,5 (nenhuma letra)
- 2,5 (nenhuma letra)
- 2,4 (nenhuma letra)
- 2,4 (nenhuma letra)
- 2,2 (nenhuma letra)
- 2,2 (nenhuma letra)
- 2,2 (nenhuma letra)
- 2,0 (nenhuma letra)
- 1,8 (nenhuma letra)

Tabela 3. Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, para comparações entre médias para tipos de reação a *H. turcicum*, no experimento III.

Tratamento Nº	Médias
5	3,4
6	3,4
21	3,4
1	3,3
10	3,1
20	3,0
19	3,0
2	2,9
18	2,8
3	2,8
11	2,8
14	2,8
4	2,8
7	2,6
15	2,6
8	2,6
12	2,6
9	2,5
17	2,5
16	2,4
13	2,0

Tabela 4. Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, para comparações entre médias para tipos de reação a *H. turcicum*, no experimento IV.

Tratamento N°	Médias
1	3,6
21	3,5
12	3,4
18	3,4
4	3,4
14	3,3
6	3,3
11	3,3
20	3,2
10	3,2
19	3,2
15	3,2
16	3,2
13	3,1
17	3,1
3	3,0
5	3,0
2	2,7
9	2,6
8	2,6
7	2,6

Tabela 5. Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, para comparações entre médias para tipos de reação a *H. turcicum*, no experimento V.

Tratamento Nº	Médias
3	3,3
10	3,2
1	3,0
14	3,0
21	3,0
18	3,0
19	3,0
11	3,0
5	2,9
12	2,9
15	2,8
4	2,8
2	2,8
9	2,8
16	2,8
6	2,8
7	2,7
20	2,6
17	2,4
8	2,4
13	2,2

O Teste de Tukey revelou diferenças significativas para a severidade da doença, avaliada por tipos de reação, nas progênies das seleções feitas.

4.1.2. Comprimento médio das lesões

As análises da variância para o comprimento médio das lesões, em cm, nos experimentos III, IV e V são apresentadas, respectivamente, nas Tabelas 5, 6 e 7 do Apêndice, tendo elas revelado diferenças significativas entre tratamentos.

As comparações entre médias para o comprimento das lesões, nos diferentes tratamentos, pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, são apresentadas nas Tabelas 6, 7 e 8, correspondentes elas, respectivamente, aos dados obtidos nos experimentos III, IV e V.

Tabela 6. Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, para comparações entre médias para comprimento de lesão causadas por *H. turcicum*, em cm, no experimento III.

Tratamento N°	Médias
5	7,0
4	5,7
21	5,6
20	5,4
10	5,4
1	5,4
19	5,3
11	5,2
3	5,2
6	5,2
18	4,8
14	4,5
17	4,5
2	4,3
8	4,1
15	4,1
9	3,7
7	3,7
12	3,6
16	3,2
13	2,2

Tabela 7. Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, para comparações entre médias para comprimento de lesões causadas por *H. turcicum*, em cm, no experimento IV.

Tratamento N°	Médias
21	6,8
5	6,4
6	6,3
1	6,2
3	6,0
4	5,9
10	5,9
18	5,7
2	5,7
8	5,6
20	5,4
17	5,4
19	5,2
14	5,2
11	5,1
12	5,1
7	5,0
9	4,9
16	4,8
13	4,7
15	4,6

Tabela 8. Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, para comparação entre médias para comprimento de lesões causadas por *H. turcicum*, em cm, no experimento V.

Tratamento N°	Médias
3	7,6
21	7,5
1	7,3
10	7,1
11	7,0
4	6,8
16	6,6
14	6,6
7	6,3
18	6,3
19	6,3
6	6,2
9	6,2
12	6,0
2	5,7
17	5,5
15	5,3
5	5,3
20	5,2
13	4,9
8	4,6

Nos diferentes experimentos, o Teste de Tukey revelou diferenças significativas para o comprimento médio das lesões observadas nas diferentes progênes das seleções feitas no primeiro ciclo de seleção.

4.1.3. Larguras médias das lesões

As análises da variância para a largura média das lesões, em mm, avaliadas nos experimentos III e IV, são apresentadas, respectivamente, nas Tabelas 8 e 9 do Apêndice, tendo sido verificadas diferenças significativas entre os tratamentos, isto é, entre as progênes das seleções feitas.

As comparações entre médias para a largura das lesões nos diferentes tratamentos, pelo Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, são apresentados, a seguir, nas Tabelas 9 e 10, correspondentes, respectivamente, aos dados obtidos nos experimentos III e V.

Tabela 9. Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, para comparação entre médias para largura das lesões causadas por *H. turcicum*, em mm, no experimento III

Tratamento N°	Médias	
5	5,2	
6	4,9	
1	4,8	
18	4,3	
19	4,2	
2	4,2	
14	4,1	
21	4,1	
11	3,8	a
20	3,8	
10	3,8	
4	3,7	b
3	3,7	c
12	3,5	
17	3,3	
15	3,2	
7	3,0	
8	3,0	
9	2,9	
16	2,8	
13	2,0	

Tabela 10. Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, para comparação entre médias para largura das lesões causadas por *H. turcicum*, em mm, no experimento V.

Tratamento Nº	Médias
3	5,3
10	4,8
18	4,7
12	4,6
21	4,4
19	4,3
1	4,2
11	4,2
2	4,2
20	4,2
5	4,2
6	4,2
14	4,1
9	4,0
16	3,9
15	3,8
4	3,7
7	3,6
8	3,2
17	3,2
13	2,5

Considerando a média geral para cada experimento, foi possível identificar 2 grupos de linhagens com um comportamento mais estável para os 3 parâmetros estudados, isto é, tipo de reação, comprimento e largura das lesões.

No grupo menos suscetível para os três parâmetros estudados, considerando-se a média geral dos experimentos, estão as progênies 9 e 13, sendo que as progênies 7 e 8, em apenas um caso, respectivamente, para comprimento das lesões nos experimentos V e IV, não apresentaram médias menores para suscetibilidade em relação à média geral, situando-se, no entanto, muito próximas a esta.

Com relação ao grupo mais suscetível, considerando-se, também, a média geral dos experimentos para os 3 parâmetros estudados, foi possível identificar as progênies 1, 10 e a cultivar Pirapoca-amarela, referente ao tratamento 21, como sendo os materiais que apresentaram uma reação mais estável quanto à maior suscetibilidade.

As progênies 5 e 6, também revelaram-se como sendo mais suscetíveis, sendo que, respectivamente, em apenas um e dois casos, para as nove combinações entre parâmetros e experimentos, apresentaram desvios situando-se no grupo com média menor de suscetibilidade.

Quanto às demais progênies, estas apresentaram variações quanto à sua situação quando foi considerada a média geral do experimento.

Considerando-se as diferenças significativas, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, com exceção para o parâmetro comprimento das lesões no experimento V, nos demais casos, combinações entre parâmetros e experimentos, foram encontradas diferenças significativas entre as progênes menos suscetíveis e as mais suscetíveis. Nestes casos, a progênie 13 diferiu, na maioria dos casos, de uma ou mais progênes suscetíveis (1, 10 e 21), enquanto que em outros dois casos, como progênes resistentes, estavam envolvidas as progênes 7, 8 e 9.

4.1.4. Análise de regressão e correlação linear

As relações existentes entre:

- a) comprimento e largura;
- b) nota e largura; e
- c) nota e comprimento,

como também o grau de associação entre as variáveis mencionadas são apresentados nas Tabelas 11, 12 e 13, referentes, respectivamente, aos experimentos III, IV e V.

Tabela 11. Relações entre parâmetros estudados e graus de associação observados para o experimento III.

Y	X	Equações	Coefic. de correlação (r)
Comprim.	largura	$y=3,5651+11,5724x$	0,8396
Nota	largura	$y=1,2272+ 0,4357x$	0,9166
Nota	comprim.	$y=1,4446+ 0,0302x$	0,8731

Tabela 12. Relação entre parâmetros estudados e grau de associação observado para o experimento IV.

Y	X	Equação	Coefic. de correlação (r)
Nota	comprim.	$y=2,2546+2,600x$	0,3312

Tabela 13. Relações entre parâmetros e graus de associação observados no experimento V.

Y	X	Equações	Coefic. de correlação (r)
Comprim.	largura	$y=25,2736+9,0401x$	0,6413
Nota	largura	$y= 1,2517+0,3918x$	0,8923
Nota	comprim.	$y= 1,3545+0,0241x$	0,8117

4.2. Esporulação do Patógeno sobre Lesões em Segmentos de Folhas

A esporulação observada sobre as lesões estudadas revelou que o tipo da lesão influenciou tanto o início da esporulação como a quantidade de esporos formados, conforme pode ser verificado na Tabela 14.

Tabela 14. Esporulação do patógeno sobre lesões de diferentes tipos de reação em diferentes seleções.

Seleção nº	Tipos de reação	Esporulação nas lesões Período de observação (horas)			
		24	48	72	96
8	Susc.1	°	°°	°°	°°
		-	+	+	+
		+	+	+	+
		+	++	+++	+++
9	Susc.1	°	°	°	°°
		°	°	°°	°°
		-	-	-	-
		-	+	+	++
13	Susc.1	°	°	°°	+
		-	+	+	+
		+	+	+	+
		+	+	+	+
11	Susc.2	°	°°	°°	-
		°	°°	+	++
		+	+	++	++
		°	°	°	°
14	Susc.2	°	°	°°	°°
		°	°	+	+
		°°	°°	+	+
		+	+	+	+
17	Susc.2	°	°	°	°
		°	°	°	°
		°°	°°	°°	-
		°°	+	++	++
1	Susc.3	+	+	++	++
		++	++	++	+++
		°	-	+	++
		+	++	++	+++
3	Susc.3	°	+	++	++
		+	+	++	+++
		+	++	+++	+++
		+	++	+++	+++
21	Susc.3	°°	+	++	+++
		+	+	++	+++
		+	++	+++	+++
		+	++	+++	+++

° sem formação de conidióforos; °° início de formação de conidióforos; - sem esporulação; + esporulação fraca; ++ boa esporulação; +++ esporulação abundante sobre a lesão e tecidos adjacentes.

5. DISCUSSÃO

5.1. Reação de Progenies

Em condições de campo, segundo comunicação pessoal feita por Balmer, a cultivar Pirapoca-amarela se caracteriza por apresentar um elevado grau de suscetibilidade a *H. turcicum*, apresentando, conseqüentemente, lesões necróticas grandes e necrose de extensas áreas de tecido foliar resultante da coalescência entre lesões.

As progenies de seleções obtidas para a cultivar Pirapoca-amarela, resultante de um ciclo de seleção recorrente fenotípica para menor suscetibilidade a *H. turcicum*, apresentaram, no presente trabalho, variações quanto à suscetibilidade das plantas ao patógeno, em condições de casa-de-vegetação.

As reações de suscetibilidade observadas nas progenies do 1º ciclo de seleção, com exceção das plantas que não apresentaram sintomas - plantas limpas, variaram quanto ao

tipo de reação observado nas plantas, comprimento e largura das lesões.

Quanto aos tipos de reação, foi verificado que houve um aumento na frequência percentual para plantas com os tipos de reação L e Susc.1, menos suscetíveis, na maioria das progênes do 1º ciclo de seleção, quando comparado com a população original de Pirapoca-amarela, tratamento 21, considerada como testemunha.

Uma variação na composição percentual para os diferentes tipos de reação observados dentro de progênes já foi relatada por FROSI e BALMER (1980), quando analisaram o comportamento de linhagens em compostos de milho. Na ocasião, os autores se referiram a tipos de reação considerados como resistentes, reações estas não observadas no presente trabalho, uma vez que, com exceção das plantas limpas, as reações observadas foram de suscetibilidade. Com relação às plantas limpas, plantas sem sintomas, não foram observadas reações que pudessem sugerir a ocorrência de reações de resistência, isto é, a presença de minúsculas lesões necróticas. Este fato é altamente interessante para ser estudado com mais detalhes em material de ciclos mais avançados de seleção.

Quanto à severidade de doença, que de certo modo poder ser avaliada em função das notas atribuídas aos diferentes tipos de reação, o teste de médias revelou diferenças significativas para os tipos de reação observados nas progênes do 1º ciclo de seleção, quando comparadas entre si e com as reações apresentadas pela população original, nos diferentes experimentos.

Quando os valores obtidos para reações referentes ao tipo de reação para progênies do 1º ciclo de seleção são comparados em diferentes experimentos, verifica-se que o comportamento das progênies é variável, a não ser para os casos extremos, uma vez que existe uma variação dentro de certo limite, podendo uma reação considerada como intermediária variar para mais ou menos suscetível, como, também, uma reação mais suscetível comportar-se como menos suscetível em certos experimentos.

Esta variação no comportamento, possivelmente, deve ser atribuída a condições de ambiente influenciando na reação das plantas. Provavelmente, a característica de maior ou menor suscetibilidade seja condicionada por um maior número de genes, quando comparada com a resistência tipo lesão clorótica, já relatada na literatura, de natureza monogênica.

Assim, um caráter de natureza poligênica seria muito mais afetado pelas condições do ambiente existente por ocasião da realização dos experimentos, que foram realizados em diferentes épocas. Fato interessante, referente à influência de repetições, é relatado por ALMEIDA (1974) quando menciona que híbridos testados variaram quanto à resistência nas diferentes repetições, embora o tipo de resistência não tenha sido bem caracterizado pelo autor.

5.2. Comprimento e Largura das Lesões

No concernente ao comprimento médio das lesões, foi possível diferenciar as progênes com relação à maior ou menor suscetibilidade a *H. turcicum*. No entanto, o comportamento das progênes quanto ao grau de suscetibilidade apresentado não foi estável, isto é, não permitiu uma ordenação igual para as médias dos tratamentos nos diferentes experimentos. Este fato, provavelmente, reflete uma interação entre genótipo e ambiente. Apesar desta variação na resposta das cultivares, foi possível, considerando-se a média geral do experimento, detectar um grupo menos suscetível constituído pelas progênes 7, 8, 9, 12, 13, 15 e 16, sendo que as progênes 9, 13, 15 e 16 sempre apresentaram valores correspondentes à uma menor suscetibilidade em todos os experimentos.

Por outro lado, considerando-se o tamanho das lesões, também foi possível detectar um grupo mais suscetível constituído pelas progênes 1, 5, 6 e 10 e o tratamento 21 correspondente à população original, que sempre apresentaram uma suscetibilidade maior que a média dos experimentos.

Com relação às formas de amostragem utilizadas, a obtenção de média da parcela a partir da maior lesão nas duas folhas inoculadas, experimento III, ou a partir da maior lesão na planta, experimentos IV e V, não foi possível detectar diferenças entre os experimentos realizados, uma vez que os grupos constituídos pelas progênes menos suscetíveis e mais suscetíveis foram os mesmos para os dois métodos utilizados.

Com relação à largura das lesões foi possível verificar diferenças para a reação das progênes testados. Considerando-se a média do experimento, foi possível, à semelhança do que ocorreu para o comprimento das lesões, detectar dois grupos de progênes, respectivamente, mais e menos suscetíveis a *H. turcicum*.

O grupo menos suscetível, para os dois experimentos realizados, foi constituído pelas progênes 7, 8, 9, 13, 15 e 16, enquanto que o mais suscetível foi composto pelas progênes 1, 5, 6 e 10, e pela população original correspondente ao tratamento 21.

5.3. Relações entre Parâmetros

Quanto à relação entre parâmetros, foi observada uma relação positiva para tipos de reação e comprimento das lesões, tipos de reação e largura das lesões, e comprimento e largura das lesões, variando as relações, no entanto, entre experimentos.

Uma análise geral com relação aos graus de associação entre os diferentes parâmetros revela que, no experimento III, ocorreu um maior grau de associação entre variáveis, variando o coeficiente de correlação (r) de 0,8396, para a associação comprimento e largura das lesões, até 0,9166 para a associação tipos de reação e largura.

No experimento V, a relação de maior grau variou de 0,6413, para a associação comprimento e largura das lesões, até 0,8923 para a associação tipo de reação e largura da lesão.

No entanto, no experimento IV, o resultado referente ao coeficiente de correlação (r) revelou um menor grau de associação entre tipo de reação e comprimento da lesão quando comparado com os resultados obtidos nos experimentos III e V. Provavelmente, este fato está relacionado com as condições de temperatura mais elevadas e necessidade frequente de irrigação dos vasos, por ocasião da realização do experimento IV, fatores estes que provavelmente influenciaram na relação patógeno-hospedeiro, afetando a avaliação referente ao tipo de reação que sofre influência subjetivas.

5.4. Esporulação do Patógeno sobre Lesões e Considerações Finais

Quanto à esporulação do patógeno sobre as lesões, foi verificado que o tipo de reação influenciou no tempo necessário para a produção de esporos e na quantidade de esporos produzidos, uma vez que para os tipos de reação Susc. 1 e Susc. 2 foi verificado um retardamento na produção de esporos quando comparada com aquela que ocorreu em lesões do tipo Susc. 3. Além do retardamento observado na produção de esporos sobre as

lesões Susc. 1 e Susc. 2 foi verificado que, de modo geral, a quantidade de esporos produzidos foi menor em relação àquela observada em lesões Susc. 3.

Efeitos de reação do hospedeiro na esporulação do patógeno já foram mencionados por HILU e HOOKER (1965) e El Shafey et alii, citados por ALMEIDA et alii (1978), quando estudaram plantas com certos tipos de resistência a *H. turcicum*. FROSI (1978), estudando tipos de reação em milho a *H. turcicum* em linhagens de 2 compostos de milho, também verificou efeitos de tipos de reação sobre a esporulação do patógeno.

No entanto, é interessante observar que os dados obtidos no presente estudo se referem somente a diferentes graus de suscetibilidade, ou seja, esporulação sobre lesões do tipo necrótico, enquanto que FROSI (1978) pesquisou a esporulação sobre tipos de reação envolvendo resistência e suscetibilidade.

Quanto ao experimento II, não foram detectadas diferenças significativas entre as diferentes progênies testadas, como ocorreu nos outros experimentos já relatadas, uma vez que o experimento foi realizado no mês de junho, época em que a temperatura caiu drasticamente, tornando-se necessário fechar completamente a casa-de-vegetação. Nestas condições, o grande número de plantas existentes fez com que as condições do ambiente se assemelhassem a uma câmara úmida durante grande parte da noite e do dia. Assim, a alta umidade existente no ambiente associada a baixas temperaturas e ao curto período de iluminação que ocorre nesta época do ano devem ter alterado se

riamente a fisiologia das plantas interferindo na manifestação dos diferentes genótipos das plantas. Estas observações estão de acordo com ULLSTRUP (1967) quando menciona que a "queima" da folha do milho causada por *H. turcicum* varia em função das condições do ambiente e constituição genética das plantas.

Pelo fato das condições de ambiente durante a realização do Experimento II divergirem de forma marcante daquelas existentes por ocasião da realização dos demais experimentos, os dados do experimento II não foram apresentados na dissertação.

6. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que:

a) diferentes graus de suscetibilidade a *H. turcicum*, manifestados por diferentes reações de suscetibilidade, podem ser detectados, em condições de casa-de-vegetação, em plantas jovens de progênies de milho pipoca resultantes de um ciclo de seleção para menor suscetibilidade a *H. turcicum* em condições de campo;

b) tipos de reação do hospedeiro ao patógeno, comprimento e largura das lesões são parâmetros que permitem a avaliação da maior ou menor suscetibilidade de plantas jovens a *H. turcicum*, em condições de casa-de-vegetação;

c) tipos de reação para suscetibilidade, lesões necróticas, em plantas jovens de milho pipoca estão relacionados com a esporulação do patógeno sobre as lesões, uma vez que ocorre um retardamento na produção dos esporos em lesões referentes a um menor grau de suscetibilidade ao patógeno; e

d) a avaliação do comprimento das maiores lesões causadas por *H. turcicum*, em plantas jovens, 14 dias após a inoculação, permite a diferenciação entre diferentes níveis de infecção em plantas suscetíveis, não estando sujeito a fatores subjetivos como o parâmetro tipo de reação, sendo, no entanto, necessários estudos sobre a correlação entre o comprimento da lesão e parâmetros epidemiológicos, a fim de que se possa avaliar o valor do comprimento de lesão como parâmetro para a avaliação de diferentes níveis de suscetibilidade.

7. LITERATURA CITADA

- ALMEIDA, A.M.P., 1974. Teste de resistência de cultivares de milho ao *Helminthosporium maydis*, Nisikado e Miyake e *Helminthosporium turcicum* Passerine, em casa-de-vegetação. Agron. sulriograndense, Porto Alegre, 10(2):189-193 p.
- ALMEIDA, A.M.P. e E. HEIDRICH-SOBRINHO, 1978. Raças fisiológicas de *Helminthosporium turcicum* Pass, no Rio Grande do Sul. Agron. sulriograndense, Porto Alegre. 14:285-290 p.
- BALMER, E., 1978. Doenças do milho. IN: "Melhoramento e produção do milho no Brasil". 480-504 p. Fundação Cargil, ed. Piracicaba/ESALQ, Marprint, 650 pp.
- BALMER, E., 1980. Doenças do milho. IN: Manual de Fitopatologia. 2^a edição. São Paulo, Ed. Agronômica Ceres Ltda. Vol. 2, 371-391 p.

- BERGQUIST, R.R. e O.R. MASIAS., 1974. Physiologic spesciali-
zation in *Trichometasphaeria turcica* f. sp. *zeae* and *T.*
turcica f. sp. *sorghii* in Hawaii. Phytopathology, 64:645
649 p.
- CHENULU, V.V. e T.S. HORA, 1962. Studies of Losses to *Helmin-*
thosporium turcicum, Blight of maize. Indian, Phytopa -
thology, 15:235-237 p.
- DODD, J.L., 1980. The role of plant stress in development
of corn stalk rots. Plant Dis. Rep. 64(6):533-537.
- ELLIOT, CH. e M.T. JENKINS, 1946.. *Helminthosporium turci -*
cum, Leaf blight of corn. Phytopathology, St. Paul, 36
(7):660-666 p.
- FROSI, J.F. 1978. Reações a *Helminthosporium turcicum* Pass.
em compostos de milho (*Zea mays* L.), Piracicaba, ESALQ/
USP. 44 p (Tese de Mestrado).
- FROSI, J.F. e E. BALMER, 1980. Reações de linhagens de mi -
lho a *Helminthosporium turcicum* Pass. em casa-de-vegeta -
ção. Fitopatol. Bras., 5(3):229-238 p.
- GEVERS, H.O. 1975. A new major gene for resistance to *Hel-*
minthosporium turcicum. Leaf blight of maize. Plant Dis.
Rep., 59(4):296-300 p.
- HEIDRICH-SOBRINHO, E. e M.T.L. HERMES, 1981. Studies of ge-
netic resistance to and virulence of *Trichometasphaeria*
turcica Lutt. in corn. Rev. Brasil. Genetic. IV(1):17-
28 p.

- HILU, H.M. e A.L. HOOKER, 1962. Expression of the monogenic chlorotic. Lesion resistance to *Helminthosporium turcicum* in corn seedlings. Phytopathology, 32:736 p.
- HILU, H.M. e A.L. HOOKER, 1963. Monogenic chlorotic lesion resistance to *Helminthosporium turcicum* in corn seedlings. Phytopathology. 58(8):909-912 p.
- HILU, H.M. e A.L. HOOKER, 1965. Localized infection by *Helminthosporium turcicum* on corn leaves. Phytopathology . 55:189-192 p.
- HOOKER, A.L., 1963. Inheritance of chlorotic-Lesion Resistance to *Helminthosporium turcicum* in seedling corn. Phytopathology 53:660-662 p.
- HOOKER, A.L., H.M. HILU, D.R. WILKINSON e C.G. VAN DYKE, 1964. Additional sources of chlorotic-Lesion resistance to *Helminthosporium turcicum* in corn. Plant Dis. Rep. 48(9): 777-780 p.
- HOOKER, A.L. e KIM, S.K. 1973. Monogenic and multigenic resistance to *Helminthosporium turcicum* in corn. Plant Dis. Rep. 57(7):586-589 p.
- HOOKER, A.L., 1977. A second major gene locus in corn for chlorotic lesion resistance to *Helminthosporium turcicum* Pass. Crop Science. Madison 17(1):132-135 p.

- HOOKER, A.L., 1978. Additional sources of monogenic resistance in corn to *Helminthosporium turcicum* Pass. Crop Science. Madison, 18(5):787-788 p.
- HOOKER, A.L., 1980. Relationship of dominant genes in corn for chlorotic lesion resistance to *Helminthosporium turcicum* Pass. Plant Dis. Rep. 64(4):387-390 p.
- HUGHES, G.R. e A.L. HOOKER, 1971. Gene action conditioning resistance to northern leaf blight in maize. Crop Science, Madison, 11:180-184 p.
- ISSA, E., 1983. Controle químico de *Helminthosporium turcicum* Pass. em milho pipoca (*Zea mays* L.). O Biológico. São Paulo 49(2):41-44 p.
- JENKINS, M.T., A.L. ROBERT e W.R. FINDLEY JR., 1952. Inheritance of resistance to *Helminthosporium turcicum* leaf blight populations of F₃ progenies. Agronomy Journal. 44:438-442 p.
- JENKINS, M.T. e A.L. ROBERT, 1961. Further genetic studies of resistance to *Helminthosporium turcicum* Pass. in maize by means of chromosomal translocations. Crop Science. Madison. 1:450-455.
- PERKINS, J.M., 1981. Reactions of eighty-four sources of chlorotic lesion resistance in corn to three biotypos of *Helminthosporium turcicum* Pass. Plant Dis. Rep. 65(6): 502-504 p.

- RAYMUNDO, A.D., 1981. Measuring the relationship between northern corn leaf blight and yield losses. Plant Dis. Rep. 65(4):325-327 p.
- RAYMUNDO, A.D., A.L. HOOKER e J.M. PERKINS, 1981. Effect of gene HtN on the development of northern corn leaf blight epidemic. Plant Dis. Rep. 65(4):327-330 p.
- ROBERT, A.L. e JENKINS, M.T., 1949. Variability in monoconidial and Hyphaltip isolates of *Helminthosporium turcicum* Pass. Phytopathology. 39:504 (Abstract).
- TUITE, J., 1969. Plant Pathological Methods. Fungi and Bacteria. Minn. USA. Burgess Publ. Co. 239 p.
- ULLSTRUP, A.J., 1952. Leaf blights of corn. Purdue University. Agricultural Experiment Station (Station Bulletin 572).
- ULLSTRUP, A.J. e S.R. MILES, 1957. The effects of some leaf blights of corn on grain yield. Phytopathology. 47:331 - 336 p.
- ULLSTRUP, A.J., 1967. "Enfermedades de las hojas. IN: Enfermedades del maíz en los E.U. de A. y su erradicación". Manual Agrícola. Agencia para el Desarrollo Intercional (A.I.D.). Mexico. 199:29-31 p.
- ULLSTRUP, A.J., 1970. Comparison of monogenic and poligenic resistance to *Helminthosporium turcicum*-Pass. in corn. Phytopathology, 60(11):1597-1599 p.

VIEGAS, A.P., 1946. Alguns fungos do Brasil. Bragantia. São Paulo. VI(8):353-444 p.

ZINSLY, J.R. e J.A. MACHADO. 1978. Milho pipoca. IN: "Melhoramento e produção do milho no Brasil", 339-348 p. Fundação Cargill ed. Piracicaba/ESALQ, Maprint. 650 pp.

A P Ê N D I C E

Tabela 1. Análise da variância para tipos de reação a *H. turcicum* em plantas de milho observados no experimento I.

Causa da Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	2	0,189	0,094	0,681 n.s.
Tratamentos	19	10,395	0,547	3,931 **
Resíduo	38	5,287	0,139	
Total	59	15,872		

MÉDIA GERAL = 2,6

COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 14,1%

Tabela 2. Análise da variância para tipos de reação a *H. turcicum* em plantas de milho observados no experimento III.

Causa da Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	2	0,620	0,310	3,142 n.s.
Tratamentos	20	7,946	0,397	4,021 **
Resíduo	40	3,952	0,098	
Total	62	12,520		

MÉDIA GERAL = 2,8

COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 10,9%

Tabela 3. Análise da variância para tipos de reação a *H. turcicum* em plantas de milho observados no experimento IV.

Causa da Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	2	0,539	0,269	4,580 *
Tratamentos	20	5,494	0,274	4,664 **
Resíduo	40	2,356	0,058	
Total	62	8,390		

MÉDIA GERAL = 3,1

COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 7,6%

Tabela 4. Análise da variância para tipos de reação a *H. turcicum* em plantas de milho observados no experimento V.

Causa da Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	2	0,465	0,232	4,059 *
Tratamentos	20	4,294	0,214	3,743 **
Resíduo	40	2,294	0,057	
Total	62	7,054		

MÉDIA GERAL = 2,8

COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 8,3 %

Tabela 5. Análise da variância para comprimento médio das lesões causadas por *H. turcicum*, em cm, em plantas de milho, no experimento III.

Causa da Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	2	8,026	4,013	3,403 *
Tratamentos	20	66,809	3,340	2,832 **
Resíduo	40	47,171	1,179	
Total	62	122,007		

MÉDIA GERAL = 4,7

COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 23,0%

Tabela 6. Análise da variância para comprimento médio das lesões causadas por *H. turcicum*, em cm, em plantas de milho, no experimento IV.

Causa da Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	2	2,257	1,128	5,197 **
Tratamento	20	21,441	1,072	4,936 **
Resíduo	40	8,686	0,217	
Total	62	32,385		

MÉDIA GERAL = 5,5

COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 8,3%

Tabela 7. Análise da variância para comprimento médio das lesões causadas por *H. turcicum* em plantas de milho, em cm, no experimento V.

Causa da Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	2	22,168	11,084	12,095 **
Tratamentos	20	44,541	2,227	2,430 **
Resíduo	40	36,655	0,916	
Total	62	103,365		

MÉDIA GERAL = 6,2

COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 15,3%

Tabela 8. Análise da variância para a largura média das lesões causadas por *H. turcicum* em plantas de milho, em mm, no experimento III.

Causa da Variação	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	2	3,148	1,574	2,947 n.s.
Tratamentos	20	35,161	1,758	3,291 **
Resíduo	40	21,365	0,534	
Total	62	59,674		

MÉDIA GERAL = 3,7

COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 19,4%

Tabela 9. Análise da variância para a largura média das lesões causadas por *H. turcicum* em plantas de milho, em mm, no experimento V.

Causa da Variância	G.L.	S.Q.	Q.M.	F
Blocos	2	13,895	6,947	14,937 **
Tratamentos	20	22,259	1,112	2,392 **
Resíduo	40	18,604	0,465	
Total	62	54,759		

MÉDIA GERAL = 4,0

COEFICIENTE DE VARIAÇÃO = 16,6%