

FERNANDO TAVARES FERNANDES

Engenheiro Agrônomo

Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo - EMBRAPA

Avaliação de cultivares de milho (*Zea mays* L) quanto à suscetibilidade a *Fusarium moniliforme* e *Diplodia maydis* após inoculação artificial dos colmos

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

Piracicaba  
Estado de São Paulo  
1975

À minha esposa e  
nossos pais

OFEREÇO

Aos

Prof. Dr. Eric Balmer, pela eficiente orientação dada para realização deste trabalho;

Prof. Dr. Ernesto Paterniani, do Instituto de Genética, pelas facilidades concedidas, revisão dos originais e sugestões apresentadas;

Prof. Dr. Hasime Tokeshi, pela revisão dos originais e sugestões apresentadas;

Colegas Eng<sup>os</sup> Agrônomos José Nelson Lemos Fonseca e Carlos Fernando Perea Correa pela colaboração prestada por ocasião dos trabalhos de campo e laboratório;

Eng<sup>o</sup> Agrônomo Ricardo Magnavaca pela colaboração prestada na análise estatística dos resultados;

Diretores do ex-Instituto de Pesquisa Agropecuária do Centro-Oeste pela oportunidade de aperfeiçoamento concedida;

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pela bolsa de estudo recebida durante o curso de pós-graduação,

os meus agradecimentos.

## Í N D I C E

	Página
1. INTRODUÇÃO .....	01
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	04
3. MATERIAIS E MÉTODOS .....	15
3.1. Patógenos utilizados e suas origens .....	15
3.2. Meios de cultura utilizados .....	15
3.3. Técnica de isolamento, preservação dos patógenos e identificação dos mesmos .....	16
3.4. Obtenção e preparo do inóculo .....	17
3.5. Método e época de inoculação .....	18
3.6. Método e época de avaliação dos sintomas .....	18
3.7. Cultivares utilizados .....	18
3.8. Delineamento experimental	
3.8.1. Influência da época de avaliação dos sintomas internos produzidos pelas inoculações feitas, separadamente, para <u>D. maydis</u> e <u>F. moniliforme</u> em colmos de dois cultivares de milho. Experimentação preliminar .....	19
3.8.2. Avaliação da resistência de cultivares de milho de diferentes origens, às podridões do colmo, baseada na sintomatologia interna .....	21
3.9. Tratamento estatístico dos dados	
3.9.1. Influência da época de avaliação dos sintomas internos produzidos pelas inoculações feitas, separadamente, para <u>D. maydis</u> e <u>F. moniliforme</u> , em colmos de dois cultivares de milho. Experimentação preliminar .....	22
3.9.2. Avaliação da resistência de cultivares de milho de diferentes origens, às podridões do colmo, baseada na sintomatologia interna .....	22

	Página
3.10. Condições ambientais reinantes por ocasião da realização dos experimentos .....	23
4. RESULTADOS .....	24
4.1. Identificação dos patógenos .....	24
4.2. Influência da época de avaliação dos sintomas internos produzidos pelas inoculações feitas, separadamente, para <u>D. maydis</u> e <u>F. moniliforme</u> , em colmos de dois cultivares de milho. Experimentação preliminar .....	25
4.3. Avaliação da resistência de cultivares de milho de diferentes origens às podridões do colmo, baseada na sintomatologia interna .....	27
5. DISCUSSÃO .....	30
6. CONCLUSÕES .....	37
7. RESUMO :.....	39
8. SUMMARY .....	41
9. BIBLIOGRAFIA CITADA .....	43
10. APÊNDICE .....	66

## 1. INTRODUÇÃO

O aumento da produtividade tem sido a meta dos melhoristas e produtores de milho. Este aumento tem sido conseguido pela seleção de plantas mais produtivas, aumento na fertilidade do solo ou da densidade de plantio. Estes fatores juntamente com os danos ocasionados nas folhagens e ataque de insetos, estão diretamente relacionados com a ocorrência de podridões do colmo, ficando evidenciada, assim a necessidade de se dar maior atenção a este tipo de doença (46, 47).

Dentre as várias doenças que podem ocorrer na cultura do milho, as podridões do colmo têm sido consideradas como sendo muito importantes devido às perdas que podem causar na produção. Estas podridões ocorrem praticamente em todas as regiões onde esta gramínea é cultivada, como por exemplo, no Brasil (23, 32, 58), na Índia (17, 84), no Egito (19), nos Estados Unidos (39) e na Argentina (60).

Vários fungos e bactérias podem causar podridões no colmo. Pro

vavelmente por serem de ocorrência mais frequente e generalizada, os fungos pertencentes ao gênero Fusarium, inclusive suas formas perfeitas, e o gênero Diplodia, têm merecido maior atenção dos fitopatologistas.

Embora sejam doenças que ocorrem principalmente em plantas próximas da maturidade, podem, contudo, ocorrer em estágio de "seedlings", quando as plantas não apresentam ainda fatores de resistência à colonização. Com relação à Diplodia, tem sido observado que as plantas tornam-se resistentes à colonização por este fungo após a formação das raízes adventícias, mesmo que a infecção do colo, mesocótilo ou raízes, já tenha ocorrido. O fungo passaria, neste caso, para o estado de latência dentro da planta, permanecendo nesta condição até a época da polinização quando, com a queda da resistência, os tecidos dos entrenós mais baixos passariam a ser colonizados pelo fungo. Embora a infecção, neste caso, tenha ocorrido cedo, com relação à idade da planta, os sintomas só se tornarão visíveis após a polinização (31, 42, 73).

Quando a infecção ocorre no fim do ciclo, esta pode se iniciar pelas raízes, nos nós através da junção da bainha com o colmo, nos pontos de junção das raízes com o colmo, quer acima ou abaixo do nível do solo, através de ferimentos e diretamente pela epiderme (39).

A penetração das espécies de Fusarium é favorecida por ferimentos, enquanto que as espécies de Diplodia podem penetrar diretamente pela epiderme.

As podridões do colmo se situam entre os vários fatores que causam o acamamento das plantas, sendo este uma das suas principais consequências. Espigas de plantas acamadas são difíceis de serem colhidas, permanecendo no terreno ou apodrecendo em contacto com o solo. As podridões podem causar uma redução na produção de até 20% devido às perdas durante a colheita, e no caso em que 50% do entrenó estiver apodrecido, uma baixa produção pode ocorrer devido à má granação das espigas (39, 41).

Pouco se conhece sobre o modo de herança da resistência as podridões do colmo. Foi demonstrado que a resistência de um híbrido é pro-

porcional ao número de linhagens resistentes que entram em sua síntese (2, 57). Nos Estados Unidos, muitos híbridos comerciais têm na sua composição, uma ou mais linhagens resistentes aos agentes apodrecedores do colmo (19).

Fungos do gênero Fusarium e Diplodia, patogênicos ao colmo de milho, também o são às espigas. Podridões de espigas já foram relatadas como ocorrendo nos Estados de Minas Gerais, Rio Grande do Sul, Guanabara, São Paulo e Bahia (23, 58).

Sendo a inoculação do colmo um meio seguro e que facilita a seleção para resistência às podridões do colmo (24, 34, 84), foi a mesma utilizada no presente trabalho o qual foi desenvolvido em duas etapas. Na primeira etapa, constituída da experimentação preliminar, embora a época não fosse a mais indicada para o plantio de milho, procurou-se familiarizar-se com as técnicas de inoculação e de avaliação dos sintomas internos. Na segunda etapa foi feita a avaliação da resistência de cultivares de milho, pertencentes ao Ensaio Nacional de Milho para o ano agrícola 1972/73, aos agentes causadores de podridões do colmo. A importância de se conhecer a resistência dos materiais testados, está no fato de permitir uma previsão da necessidade de melhoramento para resistência, como também detectar possíveis fontes de resistência aos patógenos do colmo.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Entre os fungos citados na literatura como agentes causadores de podridões no colmo em plantas de milho, estão Diplodia maydis (Berk.) Sacc. [Sin. Diplodia zeae (Schw.) Lé.v.], Diplodia macrospora Earle, Fusarium moniliforme Sheld., [Gibberella moniliforme (Sheld.) Snyder e Hans.; Sin. Gibberella fujikuroi (Saw.) Wr.], Fusarium moniliforme var. subglutinans (Gibberella moniliforme var. subglutinans Ed.) e Fusarium graminearum Schw. [Gibberella zeae (Schw.) Petc.] (18, 37, 39).

SNYDER e HANSEN (66) consideram F. moniliforme e F. moniliforme var. subglutinans como sinônimos, embora BOOTH (?) os considera como duas espécies diferentes, baseado no fato da primeira espécie apresentar microconídios formados em simples fiálides, usualmente em cadeia, enquanto que a segunda espécie produz microconídios em polifiálides, não em cadeia.

Segundo SHEAR e STEVENS (62), de acordo com o Código Internacional de Nomenclatura Botânica, D. maydis e D. zeae são sinônimos, devendo-se preferir o primeiro por uma questão de prioridade. D. maydis difere

de D. macrospora, segundo ROGER (59), pelo tamanho dos esporos. Na primeira espécie, ele varia de 24,0-33,0 x 5,0-6,0 micras, com uma média de 23,8 x 5,3 micras, ao passo que na segunda espécie a variação é de 60,0-75,0 x 8,0-10,0 micras, com uma média de 67,8 x 9,0 micras.

No tocante à especificidade para hospedeiros, as espécies de Fusarium e suas formas perfeitas, patogênicas ao milho, podem ter como hospedeiros, uma série de plantas pertencentes a diferentes famílias, enquanto que D. maydis e D. macrospora parasitam somente o milho (7, 38, 59).

Um dos primeiros trabalhos no qual foi utilizada a técnica da inoculação artificial do colmo de plantas de milho foi realizado, em 1909, por HEALD e outros (26), os quais visavam determinar o parasitismo de D. zeae nas plantas de milho. Mais tarde, SMITH e outros (65), HOOKER (30), KOEHLER (39) e PAPPELIS (50) encontraram uma correlação positiva entre os dados obtidos pela inoculação artificial de colmos de plantas de milho e aqueles obtidos pela infecção natural dos mesmos.

Com ligeiras modificações, a inoculação artificial passou a ser utilizada em programas de melhoramento de milho (24, 29), tanto no estudo da herança da resistência (3, 18, 27), como no estudo da natureza da resistência (4, 14, 33, 78, 85).

A inoculação artificial, segundo KOEHLER (39) e JUGENHEIMER (34), é um método eficiente para a seleção de plantas resistentes às podridões do colmo. CLARK (12), embora reconhecendo que este método pode apresentar algumas limitações, considera os dados a serem obtidos como valiosos para os melhoristas. Estas limitações seriam a incapacidade do método de detectar outras formas de resistência, bem como a resistência em plantas de maturação precoce, além da necessidade de serem realizadas inoculações em épocas diferentes, num mesmo ano agrícola, quando da existência de hospedeiros com épocas de florescimento diferentes.

Grande parte dos trabalhos encontrados na presente revisão bibliográfica são de origem americana. No Brasil, a literatura consultada revelou que PARADELLA (54) foi o primeiro a utilizar a inoculação artifi-

cial de colmos, em trabalhos de melhoramento de milho visando obter material resistente às podridões do colmo.

Com relação à herança da resistência às podridões do colmo em milho, existe uma certa discordância de resultados. Assim, BANSAL (3) verificou que a herança da resistência para D. maydis é de caráter quantitativo com predominância da ação gênica aditiva, enquanto que FERGASON (20) encontrou resultado semelhante e somente acrescenta que a ação gênica não aditiva também estava envolvida. Por outro lado, EL-ROUBY e RUSSEL (19), HOFFBECK (27) e YOUNIS e outros (84) são concordantes em que há predominância da ação gênica dominante para herança da resistência a F. moniliforme, D. maydis e G. zeae. SMITH e outros (65), ANDREW (2) e POEHLMAN (57) demonstraram que a resistência de um híbrido é proporcional ao número de linhagens resistentes que entram em sua síntese. YOUNIS e outros (84) estimaram a herdabilidade da resistência em 73% e concluíram que este caráter tem uma apreciável base genética, podendo responder à seleção.

Com relação à natureza da resistência, foi observado que a prevenção da polinização ou a eliminação das espigas aumentavam a resistência das plantas às podridões do colmo, quando este era inoculado artificialmente, sendo observado também que este permanecia verde até próximo à época da colheita (39). Por outro lado, colmo de plantas com duas espigas era mais suscetível quer à inoculação artificial quer à infecção natural, que aquele de plantas portadoras de uma só espiga. Este efeito foi atribuído por SAYERÉ e outros (61), Van REEN e SINGLETON (74) como sendo devido à variação no teor de hidratos de carbono na planta, enquanto que KOEHLER (39), LEOPOLDO (40) e CRAIG (14) o atribuíram a senescência dos tecidos devido à translocação de elementos do colmo para as espigas.

Ainda com relação à natureza da resistência, alguns pesquisadores procuraram correlacionar a resistência aos patógenos com a composição química de sucos e extratos de colmos de plantas de milho. JOHANN e DICKSON (33), WHITNEY e MORTIMORE (79, 80) encontraram que sucos e extratos de colmos obtidos antes ou pouco após a polinização apresentavam um e-

feito fungistático sobre D. zeae, G. zeae e F. moniliforme, quando testados em meio de cultura.

Por outro lado, BARNES (4) observou que, por ocasião da emissão dos estigmas, os extratos obtidos de colmos e raízes tanto de plantas resistentes como suscetíveis não diferiam na quantidade da substância fungistática, enquanto que, após este período, esta substância, mais tarde identificada como 6-methoxybenzoxazolinone (MBOA) (80), desaparecia mais lentamente nas plantas resistentes que nas suscetíveis.

Para estudar o efeito da época de inoculação sobre o desenvolvimento dos sintomas, MICHAELSON (44) inoculou plantas de milho com D. zeae e G. zeae em épocas diferentes e observou que quando as inoculações eram feitas antes das plantas atingirem o período de maior suscetibilidade, o que ocorria próximo à época de produção de pólen, as lesões eram menores que aquelas decorrentes de inoculações mais tardias, embora no primeiro caso o tempo para o aparecimento dos sintomas fosse maior. O referido autor concluiu que, provavelmente, o hospedeiro deveria possuir alguma substância que inibia o desenvolvimento do patógeno, sendo que o fungo não parecia se recuperar totalmente para apresentar um desenvolvimento como aquele apresentado por inoculações feitas mais tarde.

BeMILLER e PAPPELIS (5, 6), procurando correlacionar a densidade dos tecidos da medula e o teor de glicosídeos com a resistência à colonização dos patógenos causadores das podridões do colmo, observaram que tecidos de maior densidade apresentavam maior quantidade de substâncias glicosídicas que de tecidos de baixa densidade, o suficiente para inibir a germinação dos esporos dos patógenos. Como os tecidos de maior densidade apresentavam maior quantidade de células vivas que os de menor densidade, os autores (53) concluíram que estas substâncias glicosídicas eram perdidas quando as células morriam.

Outros fatores, como: teor de sólidos solúveis, estado de hidratação da medula (52, 82), fertilidade do solo (1, 22, 55, 70), grau de senescência dos tecidos do colmo (49), teores de lignina, cinzas, celulo-

se e nitrogênio no colmo (85), teor de substâncias fungistáticas nos tecidos do colmo (4, 5, 33, 78), ataque de insetos (11, 44, 69), injúria nas folhas (28, 44, 82), também foram relacionados com a resistência das plantas de milho às podridões do colmo.

A colonização de D. maydis e G. zeae em colmos de milho é, então, inibida por células vivas, em um estado de intenso metabolismo. Fatores como danos nas raízes (51, 63), paralização do crescimento vegetativo, senescência das folhas e reprodução (31, 40, 75), capazes de alterar a atividade fisiológica das células, afetam a resposta do hospedeiro aos patógenos (82).

Entre os métodos de inoculação de colmo de plantas de milho, a literatura cita o uso de seringas hipodérmicas (29, 65), palitos de dente (8, 25, 35, 83), limpador de cachimbo (10, 48), bem como o uso de grãos de cereais colonizados pelos patógenos, os quais são inseridos diretamente no colmo (10, 21, 49). Procurando comparar a eficiência dos três primeiros métodos de inoculação, KOEHLER (39) inoculou uma suspensão de D. zeae no 2º entrenó alongado acima do solo e não encontrou diferença significativa entre eles, quanto à sintomatologia interna apresentada pelos colmos inoculados. No entanto, WILLIAMS e MENON (81) observaram que o método envolvendo o uso da seringa havia produzido, em um dos seus experimentos, menor quantidade de podridão quando comparado com os outros dois métodos. É interessante ressaltar que a metodologia empregada não foi a mesma que a de KOEHLER (39).

CAPPELINI (10), fazendo comparações entre o uso de palito de dente, limpador de cachimbo, seringa hipodérmica, introdução no colmo de discos de agar e de grãos de aveia colonizados pelos patógenos para fins de inoculação, observou que a severidade da doença foi menor quando utilizou o limpador de cachimbo, sendo que os demais métodos de inoculação não diferiram significativamente entre si. O uso da seringa permitiu, por outro lado, um trabalho mais rápido. Uma inconveniência para o uso do palito de dente e do limpador de cachimbo como instrumentos de inoculação é não permiti

rem a avaliação do potencial de inóculo utilizado, fator este que influencia na severidade dos sintomas (39).

A "bengala de inoculação", descrita por KOEHLER (39) e utilizada por vários pesquisadores, permite a utilização de uma suspensão de esporos de concentração conhecida e a avaliação do volume gasto por planta. Além disso é leve, fácil de encher e manejar, permitindo inoculações rápidas.

A concentração de inóculo já foi citada por KOEHLER (39) como sendo um fator importante na determinação da severidade dos sintomas em colmos de milho. CLARK (12) e KOEHLER (39) mencionam terem usado em seus trabalhos um inóculo com a concentração de  $8 \times 10^6$  conídios de D. zeae por mililitro de suspensão, ao passo que WANDERWEYEN (76) utilizando para o mesmo patógeno uma concentração de  $5,5 \times 10^6$  conídios por mililitro, obteve uma infecção satisfatória.

Em inoculações feitas separadamente para F. moniliforme e D. zeae, PARADELLA (54) utilizou, respectivamente, as concentrações de  $2,3 \times 10^7$  e  $1,8 \times 10^7$  conídios por mililitro, ao passo que as concentrações acima citadas foram reduzidas à metade quando estes dois fungos foram inoculados simultaneamente.

CALVERT e outros (9), MICHAELSON (44) e TAYLOR (69), estudando o efeito das inoculações feitas isoladamente e em conjunto para D. zeae e G. zeae ou F. moniliforme, observaram que os sintomas internos produzidos pela inoculação simultânea destes patógenos se assemelhavam àqueles produzidos por D. zeae quando inoculado separadamente, demonstrando serem os sintomas, de certa maneira, quando se inoculam vários patógenos simultaneamente, determinados por aquele que apresentar maior patogenicidade.

Com relação ao volume de suspensão de conídios utilizado nas inoculações de colmo, este tem variado de 0,5 ml (10) a 1 ml (35, 76, 81), embora estes autores não tenham feito referências sobre a concentração de conídios no inóculo utilizado.

Entre os fatores que afetam a eficiência das inoculações, es

tão a idade da cultura utilizada para obtenção do inóculo e a temperatura na qual a suspensão de conídios é preservada. Estudos feitos por KOEHLER (38) mostraram que culturas de D. zeae mantidas durante 50 dias à temperatura ambiente de 65-85°F (18,3-29,4°C), ainda apresentavam boa patogenicidade. Com relação à suspensão de conídios foi possível conservá-la bem por 14 dias à temperatura de 45°F (7,2°C), enquanto que à temperatura ambiente de 65-85°F, sua deterioração ocorreu em 7 dias. Por outro lado, KOEHLER (39) mostrou que culturas de D. zeae e G. zeae, com 6 semanas de idade, apresentavam abundância de conídios e podiam ser conservadas à temperatura de 45°F (7,2°C) sem perderem a patogenicidade, enquanto que culturas de 1 ano, independentemente da temperatura em que foram mantidas, apresentaram sensível redução na patogenicidade. CLARK (12), em seus trabalhos, utilizou culturas de D. zeae de 30 dias de idade. Com relação a F. moniliforme, KOEHLER (38) e PARADELLA (54), em seus estudos sobre podridões das espigas e do colmo, utilizaram culturas de 7-14 dias de idade.

Com o fim de determinar a melhor idade da planta para inoculação do colmo, MICHAELSON (44) inoculou D. zeae e G. zeae em diferentes plantas, durante um período de 3 meses, com intervalos semanais entre inoculações, avaliando os sintomas em intervalos de 14 dias. O referido autor concluiu que as podridões mais severas ocorreram quando as inoculações foram feitas próximas à época de polinização, embora o período de suscetibilidade começasse várias semanas antes desta época e se estendesse até o estágio de formação de grãos.

HOOKEE (29), fazendo inoculações do colmo com uma suspensão de D. zeae, 1, 2, 3 e 4 semanas após a antese e avaliando as reações das plantas com base na sintomatologia interna, observou que a melhor época para inoculações se estendia por um período de 1 a 3 semanas após a antese.

Experimentos realizados em Illinois (39) não mostraram diferença significativa entre as intensidades dos sintomas apresentados por colmos inoculados com G. zeae 1 semana antes ou 1 e 3 semanas após a emissão dos estigmas. Com base neste dado, KOEHLER (39) concluiu que a época

para inoculações não parece ser crítica quando feitas dentro do período de maior suscetibilidade da planta. Assim, se as plantas diferirem entre si por até 10 dias na época da emissão dos estigmas, as inoculações poderão ser feitas todas ao mesmo tempo, tomando-se como referência a variedade mais tardia. ZUBER e outros (85) e CLONINGER e outros (13) fizeram inoculações de D. zeae em colmos de milho, respectivamente, 10 e 20 dias após 50% das plantas apresentarem estigmas enquanto que OTTO e EVERETT (48) em seus trabalhos, inocularam G. zeae 10 dias após 50% das plantas apresentarem penção.

A melhor época para avaliação dos sintomas, com base na descoloração interna dos tecidos do colmo também foi estudada por alguns autores. HOOKER (29), fazendo avaliações em períodos de 1 a 4 semanas após inoculações com D. zeae, observou que nas variedades suscetíveis ocorria um aumento considerável na severidade dos sintomas da 1ª para a 2ª semana após as inoculações, sendo que este aumento foi menor para observações feitas nas duas semanas subsequentes. Nas variedades de resistência intermediária, a severidade dos sintomas aumentava muito pouco de semana para semana, enquanto que nas variedades resistentes, praticamente não foi observado aumento na severidade dos sintomas, para leituras feitas após a 1ª semana. O autor concluiu que, para a colonização das variedades suscetíveis por D. zeae, são requeridas no mínimo 3 semanas e que a avaliação deve ser feita, preferivelmente, 4 semanas após as inoculações.

WYSONG e HOOKER (82), trabalhando com 6 híbridos representando ciclos precoce, médio e tardio, sendo que para cada ciclo foram utilizados híbridos resistentes e suscetíveis, observaram que a maior severidade nos sintomas internos no colmo ocorria 2-3 semanas após as inoculações com D. maydis. Depois deste período, o processo de apodrecimento continuava a se desenvolver, mas de maneira mais lenta.

No tocante à época de avaliação dos sintomas internos, KOEHLER (39) admite que a avaliação possa ser feita além da 3ª e 4ª semanas após as inoculações, desde que as plantas testemunhas não tenham começado

a morrer como resultado da maturidade. Neste estágio torna-se difícil avaliar a resistência com base na sintomatologia interna.

Com o fim de determinar o melhor local no colmo para inoculações, HOOKER (29) inoculou uma suspensão de D. zeae no 1º, 2º, 3º, 4º e 5º entrenós alongados acima do solo, de linhagens resistentes e suscetíveis e observou que nas linhagens resistentes a severidade dos sintomas era menor nos dois primeiros entrenós que nos entrenós mais altos. Nestes, a severidade da doença se assemelhava àquela apresentada pelas linhagens suscetíveis enquanto que nestas últimas, qualquer que fosse o entrenó inoculado, as reações eram de suscetibilidade.

WYSONG e HOOKER (82) inoculando uma suspensão de D. maydis em híbridos resistentes e suscetíveis, de ciclos precoce, médio e tardio, observaram que, em todos os híbridos, uma menor severidade nos sintomas ocorria no 1º entrenó, quando comparada com aquela observada nos 3º e 5º entrenós. CAPPELINI (10) e PAPPELIS (49), trabalhando com G. zeae, mostraram também que a suscetibilidade aumentava do 1º entrenó alongado para os entrenós superiores.

Uma vez que a resistência às podridões do colmo é detectada com maior segurança nos entrenós mais baixos e como a infecção natural ocorre com maior frequência nesta região do colmo, as inoculações visando seleção para resistência devem ser feitas na parte inferior da planta (29, 39).

Entre os vários métodos de avaliação da resistência das plantas às podridões do colmo, o da morte prematura das mesmas e da avaliação dos sintomas com base na descoloração interna do colmo inoculado são os mais frequentemente encontrados na literatura.

Com relação ao uso de plantas mortas como medida de avaliação da resistência aos patógenos apodrecedores do colmo, KOEHLER (39) relata que esta medida só deve ser utilizada quando a podridão do colmo for considerada como a única causa da morte da planta. Assim, este método não deve ser usado quando ocorrerem doenças severas nas folhas, ataque intenso

de broca ou após a morte das folhas como consequência da maturidade da planta.

Fazendo uma comparação entre o número de plantas mortas como consequência de inoculações feitas separadamente com D. zeae e G. zeae, tendo as plantas sido inoculadas de maneira semelhante, KOEHLER (39) observou que este número era maior para inoculações feitas com D. zeae que com G. zeae e que a morte prematura de plantas inoculadas com D. zeae é em função do número de inoculações feitas por planta. Inoculações múltiplas a-pressam a seca prematura das plantas suscetíveis.

Tentando explicar a natureza da morte prematura das plantas, CRAIG e HOOKER (15) a atribuíram à obstrução dos vasos por hifas e substâncias resultantes da decomposição das paredes celulares e vasos. Se a podridão não for suficientemente severa para causar a morte da planta, pode ocorrer uma redução no seu vigor e, conseqüentemente, redução na produção. Este fato foi confirmado por LITTLEFIELD e WILCOXSON (41).

Outro método utilizado para a avaliação da reação dos tecidos das plantas aos patógenos é a avaliação da área interna do colmo envolvida pela podridão. Este método consiste em se cortar longitudinalmente a região inoculada e avaliar a área que apresenta alteração na coloração do tecido. Para tanto, os dados devem ser colhidos antes das folhas começarem a morrer como resultado da senescência. A utilização deste método permitiu a DeVAY e outros (16) diferenciarem 4 classes, as quais denominaram de resistentes, moderadamente resistentes, moderadamente suscetíveis e suscetíveis e que correspondiam, respectivamente, aos percentuais de 0 a 25%, de 26 a 50%, de 51 a 75% e de 76 a 100% da área interna do entrenó inoculado apresentando sintomas, sendo que na última classe, eram incluídos também os casos em que as alterações nos tecidos da medula se estendiam para os entrenós vizinhos.

Para a avaliação da resistência, outros autores têm usado 6 classes, levando em consideração além da área do tecido afetado, a morte prematura das plantas (30, 49, 53).

Uma das principais consequências das podridões do colmo é o acamamento das plantas, sendo que este pode ser influenciado também por outros fatores tais como o comprimento do colmo, resposta das plantas aos nutrientes do solo, densidade do plantio, severidade dos ventos, intensidade do ataque de broca e resistência às geadas (39). Isto mostra a necessidade de se conhecerem os diferentes níveis de danos causados pelas doenças, para as condições citadas, antes de se lançarem ao comércio, plantas mais produtivas ou de se recomendarem novas técnicas para a cultura do milho. Com relação ao acamamento causado pelo ataque de patógenos do colmo, foi observado por CLONINGER e outros (13) e ZUBER e outros (85) que alguns híbridos, quando inoculados, embora permitissem uma maior colonização da medula, apresentavam uma certa resistência ao acamamento, mostrando assim que nem sempre é possível relacionar a resistência ao acamamento com a podridão do colmo, avaliada segundo a sintomatologia interna.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1. Patógenos utilizados e suas origens

Os isolados de D. maydis e F. moniliforme, utilizados no presente trabalho, foram obtidos de partes de plantas de milho provenientes de diversas localidades e são apresentados na tabela 1, do texto.

#### 3.2. Meios de cultura utilizados

Os meios de cultura utilizados neste trabalho foram agar-água, AA (72), batata-dextrose-agar, BDA (71) e sementes brancas de sorgo (77).

O meio de cultura agar-água foi utilizado para os isolamentos dos dois patógenos, enquanto que o meio de BDA foi utilizado para a preservação dos mesmos e obtenção de inóculo para F. moniliforme. O meio de sementes de sorgo foi utilizado para obtenção de inóculo de D. maydis.

A esterilização dos meios de AA e BDA foi feita por autoclavagem a 1,5 atmosferas, por 30 minutos, enquanto que o meio de sementes de sorgo foi esterilizado durante 60 minutos à mesma pressão atmosférica. Logo após a esterilização, os frascos contendo as sementes de sorgo foram agitados com a finalidade de se promover a separação das mesmas, permitindo, assim, um melhor desenvolvimento do fungo.

### 3.3. Técnica de isolamento, preservação dos patógenos e identificação dos mesmos

Para o caso de D. maydis, os picnidios foram retirados da parte inferior dos grãos, no ponto de junção dos mesmos com o sabugo, e transferidos para placas de Petri contendo meio de AA. Após o desenvolvimento do fungo, fragmentos do meio contendo estruturas do patógeno foram transferidos para placas contendo BDA. Para os casos nos quais os isolados apresentaram características de cultura pura, foram feitas transferências ou repicagens para tubos contendo BDA. As placas e tubos contendo estruturas do patógeno foram mantidos em condições ambientais de laboratório até a sua utilização.

Com relação a F. moniliforme, partes da planta utilizadas para o isolamento foram imersas em uma solução obtida pela mistura de 1 parte de Q-80a, solução comercial contendo 5% de cloro ativo, e 3 partes de água, durante 1 a 2 minutos, para a esterilização superficial do material, o qual foi transferido, assepticamente, para placas de Petri contendo AA. Após o desenvolvimento inicial do fungo, a sequência de operações foi a mesma já mencionada para D. maydis.

Enquanto que os isolados de D. maydis foram identificados com base no tamanho dos esporos, segundo ROGER (59), os isolados de F. moniliforme o foram tomando-se como base a presença de microconídios em cadeia (7).

### 3.4. Obtenção e preparo do inóculo

Nos experimentos conduzidos nas duas etapas deste trabalho, o inóculo de F. moniliforme utilizado consistiu de uma suspensão de conídios provenientes de 9 diferentes isolados, cultivados separadamente, em placas de Petri contendo BDA, em condições ambientais de laboratório. Os conídios foram removidos das placas através da adição de 5 a 7 ml de água destilada por placa e passando-se um pincel de pelo de camelo sobre a superfície do meio contendo a cultura do fungo. O número de conídios na suspensão foi ajustado para uma concentração de  $8 \times 10^6$  por mililitro de suspensão mediante o uso de um hemocítômetro. Na experimentação preliminar foram utilizadas culturas com 23 dias de idade, ao passo que nos trabalhos da segunda etapa, a idade das culturas foi de 17 dias.

Com relação a D. maydis, o fungo foi cultivado em garrafas de leite, com capacidade para 1.000 ml, contendo 250 ml de sementes de sorgo autoclavadas para 250 ml de água, sendo as culturas mantidas em condições ambientais de laboratório.

A suspensão de conídios de D. maydis foi obtida pela adição em cada frasco, de aproximadamente 50 ml de água destilada. Para melhor liberação dos conídios, o conteúdo de cada frasco foi agitado com um bastão de vidro a fim de fragmentar o meio de cultura. Após a agitação, a suspensão foi passada primeiramente por uma peneira de malha fina a fim de separar as impurezas maiores e, em seguida filtrada por um pano. A concentração de conídios do filtrado foi ajustada, de maneira semelhante àquela utilizada para F. moniliforme, para  $8 \times 10^6$  conídios/ml de suspensão.

A suspensão contendo conídios de cada um dos patógenos a uma concentração de  $8 \times 10^6$  conídios/ml foi obtida pela mistura de partes iguais de uma suspensão de F. moniliforme e outra de D. maydis, cada uma à concentração de  $16 \times 10^6$  conídios/ml.

A idade das culturas utilizadas na experimentação preliminar foi de 23 dias, enquanto que a das culturas nos trabalhos da segunda etapa

foi de 38 dias.

### 3.5. Método e época de inoculação

Nas duas etapas deste trabalho, as plantas foram inoculadas no centro do 1<sup>a</sup> entrenó alongado acima do solo, respectivamente, 16 e 18 dias após 50% das plantas apresentarem pendão.

Para as inoculações, foi utilizada a "bengala de inoculação" descrita por KOEHLER (39), sendo que o volume de inóculo gasto por planta foi de aproximadamente 0,8 ml.

### 3.6. Método e época de avaliação dos sintomas

Para a avaliação dos sintomas tanto na experimentação preliminar como no experimento de avaliação da resistência de cultivares de milho aos patógenos do colmo, as plantas foram cortadas transversalmente 2 a 3 entrenós acima daquele inoculado, sendo, em seguida, os primeiros entrenós acima do solo cortados longitudinalmente e avaliados para os sintomas internos apresentados. A escala de notas adotada variou de 1 a 5 e é apresentada na tabela 2, do texto. As plantas apresentando ocorrência de broca não foram avaliadas em nenhum dos experimentos.

As avaliações dos sintomas internos no colmo foram feitas, na experimentação preliminar, na 3<sup>a</sup>, 4<sup>a</sup> e 5<sup>a</sup> semanas após as inoculações, correspondendo, respectivamente, à 1<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup> e 3<sup>a</sup> épocas da avaliação. No experimento referente ao teste de avaliação da resistência de cultivares, as avaliações se iniciaram 29 dias após as inoculações e terminaram 3 dias depois.

### 3.7. Cultivares utilizados

Os cultivares utilizados no presente trabalho são apresentados na tabela 3, do texto. Aqueles utilizados no experimento referente à avaliação da resistência aos patógenos do colmo fazem parte do Ensaio Naci-

onal de Milho para o ano agrícola 1972/73 e as sementes para plantio foram cedidas pela Comissão Nacional de Milho.

Sendo os cultivares materiais genéticos de diferentes tipos, quando da análise dos dados, foram eles agrupados em 3 grupos, conforme o que pode ser observado na tabela 3, do texto.

No grupo 1 foram agrupadas as populações, os híbridos de variedades e os "top-crosses" comerciais. As populações se caracterizam por apresentarem grande variabilidade genética devido à mistura de diferentes genótipos quando de sua síntese. Um híbrido de variedade é a geração  $F_1$  entre duas populações parentais, apresentando vigor de híbrido. O "top-cross" é o cruzamento de um híbrido simples de linhagem com uma população.

No grupo 2 foram agrupados os híbridos duplos, que são oriundos do cruzamento entre dois híbridos simples. Sendo cada híbrido simples formado pelo cruzamento entre duas linhagens, na constituição do híbrido duplo entram 4 linhagens selecionadas. Como o material que foi avaliado no campo foi a geração  $F_1$  do cruzamento entre dois híbridos simples, espera-se que os cultivares deste grupo apresentem uma variabilidade genética bem menor que aqueles pertencentes ao grupo anterior.

No grupo 3 foram agrupados os cultivares provenientes da firma Cargill Agrícola S/A, e como não foi possível obter informações sobre o tipo do material genético de que são formados, foram eles colocados em um grupo isolado.

### 3.8. Delineamento experimental

3.8.1. Influência da época de avaliação dos sintomas internos produzidos pelas inoculações feitas, separadamente, para D. maydis e F. moniliforme em colmos de dois cultivares de milho. Experimentação preliminar

A experimentação preliminar é o resultado de uma análise conjunta de 3 experimentos. Cada um correspondeu a uma época de avaliação dos

sintomas, referidas neste trabalho como 1ª, 2ª e 3ª épocas, respectivamente, para avaliações feitas 3, 4 e 5 semanas após as inoculações.

Estes experimentos foram instalados em 11 de julho de 1972, numa área do Departamento de Fitopatologia da ESALQ. O delineamento utilizado em cada um deles foi um fatorial 2 x 3, constituído por 2 cultivares e 3 tipos de inoculações, com 4 repetições. Cada parcela foi constituída por uma fileira de 2 metros de comprimento, com 10 plantas, sendo este também o número de plantas inoculadas. O espaçamento entre fileiras foi de 1 metro.

Os cultivares utilizados foram o Opaco Amarelo e o híbrido duplo Agrocerec 504.

As capinas, desbaste e adubações iniciais e em cobertura foram realizadas conforme as necessidades da cultura. Para a adubação inicial, foram utilizados 900 kg/ha da fórmula 100-66-25, tendo parte do nitrogênio sido aplicada em cobertura, dos 30 aos 45 dias após a germinação. Por ocasião do desbaste, foi deixada uma planta por cova.

Os três tipos de inoculações, feitas conforme técnica descrita no item 3.5., foram: 1. inoculação só com D. maydis; 2. inoculação só com F. moniliforme e 3. "inoculação" com água. As plantas correspondentes ao último tratamento foram consideradas como testemunhas, uma vez que receberam somente ferimento, enquanto que um outro tratamento, também considerado como testemunha, consistiu de plantas que não foram nem inoculadas e nem receberam ferimentos.

O método e a época de avaliação dos sintomas foram descritos no item 3.6., sendo que nesta ocasião, não foi feito o reisolamento dos patógenos dos colmos inoculados. As lesões internas apresentadas pela testemunha "inoculada" com água, se assemelharam às aquelas apresentadas pelas plantas inoculadas com os patógenos. Devido a isto, utilizou-se, em plantas tomadas ao acaso dentro das parcelas testemunhas, na 3ª época de avaliação, as técnicas de isolamento descritas no item 3.3. De algumas destas plantas conseguiu-se isolar F. moniliforme.

### 3.8.2. Avaliação da resistência de cultivares de milho de diferentes origens, às podridões do colmo, baseada na sintomatologia interna.

Este experimento foi instalado durante o ano agrícola 1972/73, em uma área cedida pelo Departamento de Genética da ESALQ, tendo o plantio sido feito em 17 de outubro de 1972.

O delineamento estatístico adotado foi o de blocos casualizados, com parcelas subdivididas, com 4 repetições. As parcelas foram representadas pelos 25 cultivares utilizados e as 4 sub-parcelas pelos seguintes tipos de inoculações, além de uma testemunha sem ferimento: 1. inoculação só com D. maydis; 2. inoculação só com F. moniliforme; 3. inoculação com D. maydis e F. moniliforme, simultaneamente. Cada sub-parcela foi constituída por uma fileira de plantas, de 6 metros de comprimento, onde o número total de plantas, por fileira, foi de 30 e o número de plantas inoculadas, de 25, devido à não inoculação das plantas localizadas nas extremidades da fileira. O espaçamento entre fileiras foi de 1 metro.

Os cultivares utilizados encontram-se relacionados na tabela 3, do texto.

Os tratos culturais como irrigações, capinas, desbaste, adubações iniciais e em cobertura foram aqueles comumente recomendados para esta cultura. Na época do desbaste foi deixada uma planta por cova, com exceção para os casos em que ocorria falha na germinação em uma cova quando, na seguinte, eram deixadas duas plantas. Na adubação inicial foram utilizados 900 kg/ha da fórmula 100-66-25, tendo parte do nitrogênio sido aplicada em cobertura, dos 30 aos 45 dias após a germinação.

As inoculações foram feitas seguindo-se as técnicas descritas no item 3.5., enquanto que o método e a época de avaliação dos sintomas foram aqueles descritos no item 3.6.

Para o reisolamento e identificação dos patógenos inoculados, foram utilizados cultivares tomados ao acaso nas repetições III e IV. A i-

identificação de D. maydis foi feita pela confecção de lâminas dos picnídios encontrados nas lesões, em plantas inoculadas com esse patógeno, isoladamente ou em conjunto com F. moniliforme.

Quanto a F. moniliforme, as técnicas de isolamento e as características utilizadas para sua identificação foram descritas no item 3.3.

### 3.9. Tratamento estatístico dos dados

#### 3.9.1. Influência da época de avaliação dos sintomas internos produzidos pelas inoculações feitas, separadamente, para D. maydis e F. moniliforme, em colmos de dois cultivares de milho. Experimentação preliminar

A análise estatística empregada na experimentação preliminar foi a análise de grupos de experimentos, uma vez que cada um dos 3 experimentos teve o mesmo número de parcelas e a relação entre o maior e o menor quadrado médio dos resíduos, determinado por análises separadas dos experimentos, foi menor que 3 (56).

A testemunha sem ferimento, por não ter apresentado sintomas, não entrou na análise estatística.

#### 3.9.2. Avaliação da resistência de cultivares de milho de diferentes origens, às podridões do colmo, baseada na sintomatologia interna

A análise estatística deste experimento seguiu o modelo de análise de um delineamento "split-plot". Nela procurou-se fazer uma comparação, com base na sintomatologia interna, entre o comportamento dos cultivares constituindo o grupo 1 (populações, híbridos de variedades e "top-crosses" comerciais) e aqueles constituindo o grupo 2 (híbridos duplos).

Os cultivares foram agrupados segundo a variabilidade genética, conforme descrito no item 3.7.

A testemunha sem ferimento, por não ter apresentado sinto-

mas, não entrou na análise estatística.

### 3.10. Condições ambientais reinantes por ocasião da realização dos experimentos

Os experimentos constituintes do presente trabalho foram conduzidos em condições de campo, em Piracicaba, São Paulo. Aqueles pertencentes à experimentação preliminar, foram plantados em julho e colhidos em dezembro de 1972. Por terem sido plantados fora da época normal para o plantio de milho, as irrigações se estenderam até o período de formação dos grãos. Não foi possível obter dados referentes à temperatura média e precipitação pluviométrica para este período.

Com relação ao experimento referente ao teste de resistência de cultivares aos patógenos do colmo, este foi plantado em outubro de 1972, sendo os dados colhidos em fevereiro de 1973. A precipitação média para os diferentes meses, a partir de outubro até fevereiro foi, respectivamente, 162,7 - 125,5 - 76,9 - 77,2 e 54,7 mm de chuva por mês (43). Não foi possível obter dados referentes à temperatura média.

#### 4. RESULTADOS

##### 4.1. Identificação dos patógenos

Para identificar a espécie de D. maydis utilizada no presente trabalho, foram retiradas 4 amostras de cada isolado tendo sido medidos 10 esporos por amostra. A amplitude de variação foi de 19,7 - 25,4 micras de comprimento x 4,5 - 5,4 micras de largura. Com base no trabalho de ROGER (59), trata-se de Diplodia maydis (Berk.) Sacc.

Com relação a F. moniliforme, a presença de microconídios formados em simples fiáides, usualmente em cadeia, identificou a espécie como sendo Fusarium moniliforme Sheld., conforme BOOTH (7).

4.2. Influência da época de avaliação dos sintomas internos produzidos pelas inoculações feitas, separadamente, para D. maydis e F. moniliforme, em colmos de dois cultivares de milho - Experimentação preliminar

Os dados de campo referentes à experimentação preliminar são apresentados na tabela 1 do apêndice, enquanto que a média das avaliações e a análise de variância dos dados são apresentados, respectivamente, nas Tabelas 4 e 5, do texto.

A análise de variância revelou significância para o teste F, ao nível de 1% de probabilidade, para efeitos de cultivares, inoculações, épocas de avaliação e a interação inoculações x épocas. Não foi encontrada significância nas interações cultivares x inoculações, cultivares x épocas e cultivares x inoculações x épocas.

Todas as médias apresentadas neste item resultaram de avaliações quantitativas feitas para os sintomas internos do colmo, como resultado das inoculações realizadas.

As médias para cultivares, com um erro padrão de 0,074, foram:

Opaco Amarelo ..... 2,760

Híbrido Ag 504 ..... 3,088

Considerando-se todas as inoculações e épocas de avaliação, o teste de Tukey, com um  $\Delta$  ao nível de 1% de probabilidade igual a 0,282, revelou diferença significativa entre as médias para cultivares, apresentando o cultivar Opaco Amarelo menor severidade nos sintomas internos que o híbrido.

As médias para as diferentes inoculações, com um erro padrão de 0,091, foram:

Diplodia ..... 3,352 |

Fusarium ..... 3,092 |

Testemunha ..... 2,328

O teste de Tukey, com um  $\Delta$  ao nível de 1% de probabilidade igual a 0,394, não revelou diferenças significativas entre a severidade dos sintomas produzidos por D. maydis e F. moniliforme, quando inoculados separadamente, revelando, no entanto, significância entre as médias obtidas para estas duas inoculações e a testemunha com ferimento.

Para as três épocas de avaliação, as médias, com um erro padrão de 0,091, foram:

1ª época .....	2,406
2ª época .....	3,066
3ª época .....	3,300

O teste de Tukey, apresentando ao nível de 1% de probabilidade um valor de 0,394, revelou diferenças significativas entre a média obtida para a 1ª época de avaliação e aquelas obtidas para 2ª e 3ª épocas, não revelando, porém, significância entre estas duas últimas, quando consideradas todas as inoculações e cultivares.

A interação inoculações x épocas de avaliação, considerando-se os dois cultivares em conjunto, foi significativa ao nível de 1% de probabilidade, mostrando que as inoculações se comportaram diferentemente nas diferentes épocas.

Na tabela 6 do texto, procurou-se então, isolar os efeitos das inoculações dentro de cada época. Esta análise revelou diferenças significativas, ao nível de 1% de probabilidade, para efeitos de inoculações dentro da 1ª e 2ª épocas.

As médias dos três tipos de inoculações, dentro de cada época, com um erro padrão de 0,157, foram:

	<u>1ª época</u>	<u>2ª época</u>	<u>3ª época</u>
Inoc. com <u>Diplodia</u> .....	3,210	3,396	3,451
Inoc. com <u>Fusarium</u> .....	2,519	3,421	3,337
Test. com ferimento .....	1,490	2,381	3,036

O teste de Tukey, com um  $\Delta$  ao nível de 1% de probabilidade igual a 0,683, mostrou que, para a 1ª época de avaliação dos sintomas, as

médias das lesões obtidas para D. maydis e F. moniliforme e a testemunha diferiram significativamente entre si, tendo D. maydis produzido sintomas mais severos que F. moniliforme e este mais que aqueles produzidos pelo ferimento, na testemunha.

Para a 2ª época de avaliação, as médias referentes aos sintomas obtidos para D. maydis e F. moniliforme não diferiram significativamente entre si, diferindo ambos, significativamente, da testemunha.

Para a 3ª época de avaliação, as médias para os três tipos de inoculações não diferiram significativamente entre si.

#### 4.3. Avaliação da resistência de cultivares de milho de diferentes origens, às podridões do colmo, baseada na sintomatologia interna

Os dados de campo deste experimento são apresentados na tabela 2, do apêndice, enquanto que as médias das avaliações e a análise de variância são apresentadas respectivamente, nas tabelas 7 e 8, do texto.

A análise estatística dos dados revelou significância ao nível de 1% de probabilidade, no teste F, para cultivares e patógenos, não tendo sido encontrada significância para a interação cultivares x patógenos.

Uma vez que os cultivares mostraram comportamentos diferentes e, sendo materiais geneticamente diferentes, foram eles agrupados em 3 grupos, conforme descrito no item 3.7.

A análise para o desdobramento dos graus de liberdade para cultivares revelou significância, ao nível de 1% de probabilidade, entre os grupos e dentro do grupo 1 (populações, híbridos de variedades e "top-crosses" comerciais), não tendo sido encontrada significância dentro dos grupos 2 (híbridos duplos) e 3 (Cargill Agrícola S/A).

As médias para os três grupos foram:

Grupo 1 .....	3,773
Grupo 2 .....	3,945
Grupo 3 .....	4,066

Uma vez que o teste F revelou significância entre os grupos, procurou-se comparar o grupo 1 com o grupo 2. A análise de variância revelou diferença significativa, ao nível de 1% de probabilidade, para este contraste.

As médias, dentro do grupo 1, com um erro padrão de 0,097, foram:

Dentado Composto C-MI .....	3,254
ESALQ HV 1 MII .....	3,587
Grãos de Ouro 07 .....	3,698
IAC HV 2 .....	3,739
Centralmex HS 4 MII .....	3,744
IPEACO HV 53 .....	3,747
IAC HV 37 .....	3,791
Grãos de Ouro 05 .....	3,806
Flint Composto C-MI .....	3,837
Grãos de Ouro 06 .....	3,841
Azteca Prolífico VIII .....	3,881
IAC Phoenix 98 .....	3,933
IAC HV 310 .....	4,117

O teste de Tukey, com um  $\Delta$  a 1% de probabilidade igual a 0,591, revelou diferenças significativas entre a média do cultivar Dentado Composto C-MI e as médias dos cultivares Azteca Prolífico VIII, IAC Phoenix 98 e IAC HV 310, não tendo sido encontradas diferenças significativas entre as médias dos demais cultivares.

Dentro do grupo 2, as médias dos diferentes cultivares foram:

IAC Hmd 7974 .....	3,852
Grãos de Ouro 02 .....	3,921
Agrocères 152 .....	4,047
SAVE 231 .....	4,057
IAC Hmd 6999B .....	4,058
Agrocères 256 .....	4,137
Agrocères 257 .....	4,173
Agrocères 152/5 .....	4,278

O teste F não revelou diferenças significativas entre as médias desses cultivares.

Com relação aos tipos de inoculações foram obtidas as seguintes médias, com um erro padrão de 0,035:

<u>Diplodia</u> .....	4,313
<u>Diplodia</u> + <u>Fusarium</u> .....	4,300
<u>Fusarium</u> .....	3,059

Com uma diferença mínima significativa ao nível de 1% de probabilidade igual a 0,148, o teste de Tukey não revelou significância entre as médias obtidas para D. maydis quando inoculado isoladamente ou em conjunto com F. moniliforme, revelando, contudo, significância entre estas duas médias e aquela obtida para F. moniliforme, quando inoculado isoladamente.

As frequências das notas dadas em percentagem de plantas, quando os cultivares foram inoculados com F. moniliforme e D. maydis, isoladamente e em conjunto, são apresentadas, respectivamente, nas tabelas 9, 10 e 11, do texto. Para melhor interpretação destes resultados, foram traçadas curvas, as quais são apresentadas nos gráficos 1, 2 e 3, do texto, tomando-se como base a média das frequências de cada nota, dentro de cada grupo.

## 5. DISCUSSÃO

Na experimentação preliminar, com relação a cultivares, consideradas em conjunta todas as inoculações e épocas de avaliação, o Opaco Amarelo apresentou menor intensidade nos sintomas que o híbrido duplo Agroceres 504.

Procurando identificar geneticamente estes cultivares, nota-se que o Opaco Amarelo é um composto e o Agroceres 504 um híbrido duplo. Considerando-se que ambos não devem ter sido selecionados para resistência às doenças do colmo com base na sintomatologia interna uma vez que a literatura consultada não revelou nenhum trabalho neste sentido no Brasil, é de se esperar que a média para o Opaco Amarelo seja menor que a do híbrido Agroceres 504. Isto porque, devido à sua maior variabilidade genética, o primeiro deverá apresentar plantas com reações desde resistência até suscetibilidade, o que realmente aconteceu, enquanto que o segundo, devido à sua menor variabilidade genética apresentou reações mais ou menos uniformes de

suscetibilidade.

Com relação às médias para as diferentes inoculações, quando consideradas as três épocas e os dois cultivares em conjunto, foi observado que as médias obtidas para as inoculações feitas com D. maydis e F. moniliforme não diferiram significativamente entre si, indicando este resultado a ocorrência de uma mesma quantidade de tecido do colmo com sintomas, quando colonizados por estes dois patógenos. Por outro lado, a média geral das lesões na testemunha com ferimento diferiu significativamente daquelas obtidas para D. maydis e F. moniliforme, mostrando que, embora o ferimento tenha induzido o aparecimento de lesões internas nas plantas, a quantidade de sintomas observados neste tratamento foi consideravelmente menor que aquela produzida pelos dois patógenos inoculados.

Analisando o efeito de épocas de avaliação dos sintomas, foi observado que as médias das lesões variaram com o tempo decorrido após as inoculações. Para as condições em que foi realizado o experimento, os resultados obtidos sugerem que a 1ª época não é a melhor para a avaliação dos sintomas internos, uma vez que até a 2ª época ainda ocorreu um aumento significativo no tamanho das lesões. A época mais recomendada para as avaliações será, talvez, a partir da 2ª quando os aumentos verificados nas lesões não foram mais significativos, quando considerados os dois hospedeiros e as três inoculações em conjunto.

A análise das médias para as três inoculações dentro de cada época revelou que, para a 1ª época de avaliação, a média para D. maydis foi significativamente maior que aquela observada para F. moniliforme, enquanto que estas médias não diferiram significativamente entre si nas outras duas épocas.

É interessante observar a analogia dos resultados obtidos neste trabalho para D. maydis com aqueles obtidos por HOOKER (29). Segundo este autor, em plantas suscetíveis, um rápido aumento na colonização do colmo por D. zeae geralmente ocorre até a 2ª semana após as inoculações. Após este período, as lesões continuam a crescer mas de uma maneira mais lenta.

O referido autor concluiu que para a colonização das variedades suscetíveis são requeridas, no mínimo, 3 semanas e que a avaliação deve ser feita preferivelmente 4 semanas após as inoculações.

Embora maior severidade dos sintomas tenha sido observada na 1ª época para D. maydis que para F. moniliforme, nas 2ª e 3ª épocas de avaliação as médias para ambos os fungos não diferiram significativamente entre si. Ambos os cultivares seriam então classificados como sendo igualmente suscetíveis a D. maydis e F. moniliforme.

Considerando-se que a metodologia empregada nas inoculações e o potencial de inóculo foram os mesmos para os dois patógenos em questão, o desenvolvimento mais rápido das lesões para D. maydis na primeira semana se deve provavelmente, a uma maior patogenicidade deste organismo quando comparada com a de F. moniliforme, uma vez que a condição fisiológica dos tecidos foi a mesma.

Embora os dados tenham sido obtidos fora da época normal para o plantio de milho, esses se assemelharam àqueles obtidos por HOOKER (29). Observa-se que uma avaliação feita com base nos sintomas internos antes da 2ª época, poderá conduzir ao erro de se detectar resistência a F. moniliforme onde ela realmente não existe. É preciso, portanto, dar tempo para que a colonização do colmo alcance um determinado grau, a partir do qual os aumentos passem a ocorrer de maneira mais lenta. Isto aconteceu na 2ª época de avaliação, ou seja, 4 semanas após as inoculações.

Avaliações feitas após a 2ª época não afetariam os resultados, uma vez que os aumentos verificados foram pequenos. É interessante observar a semelhança entre as recomendações feitas por KOEHLER (39) e os resultados obtidos no presente trabalho. Segundo este autor, as avaliações com base na sintomatologia interna podem ser feitas além da 4ª semana após as inoculações, desde que sejam feitas antes das plantas começarem a morrer como resultado da senescência.

Com relação aos sintomas internos apresentados pela testemunha dentro de cada época de avaliação, embora os mesmos tenham aumentado

de tamanho da 1ª época de avaliação para a 3ª, eles mostraram que a testemunha "inoculada" com água apresentou um comportamento diferente dos outros tratamentos quando a avaliação foi feita até a 2ª época. Nessa época a média das lesões apresentadas pela testemunha com fermento mostrou-se significativamente menor que aquela apresentada pelas inoculações com D. maydis e F. moniliforme. Na 3ª época de avaliação, as lesões na testemunha não diferiram significativamente daquelas produzidas pela inoculação dos dois patógenos.

Deve ser ressaltado que, após a 2ª época de avaliação, algumas plantas testemunhas apresentaram contaminações com F. moniliforme, fato este que se deveu a uma contaminação natural das plantas. Fato semelhante foi relatado por SUMMER (67) e KINGSLAND e WERNHAM (37). Provavelmente estas contaminações sejam responsáveis pelo aumento ocorrido nas lesões nas plantas testemunhas.

Com relação ao experimento referente ao teste de resistência de cultivares aos patógenos do colmo, a análise de variância revelou significância entre as médias dos grupos 1 e 2, consideradas as três inoculações em conjunto. Este resultado pode ser explicado com base na variabilidade genética dos cultivares que compõem cada grupo.

Assim, as populações, híbridos de variedades e "top-crosses" comerciais, por serem constituídos da mistura de um grande número de genótipos, apresentam, de um modo geral, maior variabilidade genética que os híbridos duplos (grupo 2), que são formados pela mistura de apenas 4 linhagens. A menor variabilidade genética nos híbridos duplos faz com que as reações às doenças, inclusive às podridões do colmo, sejam mais uniformes que naqueles cultivares de variabilidade genética maior, onde podem ser encontradas plantas apresentando reações de resistência e de suscetibilidade.

Dentro de cada grupo, embora as médias das avaliações quantitativas dos sintomas internos possam ser consideradas elevadas, os cultivares apresentaram diferenças nas respostas às inoculações. Assim, dentro do grupo 1 foi detectada diferença significativa entre as médias do cultivar

Dentado Composto C-MI e as dos cultivares Azteca Prolífico VIII, IAC Phoenix 98 e IAC HV 310, sendo o primeiro aquele que apresentou maior grau de resistência que os demais. Apesar disto, o valor das médias mostraram que não deve ter havido seleção para resistência aos patógenos do colmo dentro dos cultivares componentes deste grupo, tomando-se como base os sintomas internos, uma vez que o cultivar mais resistente situou-se na classe de medianamente suscetível, de acordo com a classificação apresentada na tabela 2, do texto.

Com relação ao grupo dos híbridos duplos, as médias dos cultivares que o compõem não diferiram significativamente entre si. Os híbridos que compõem este grupo foram obtidos de diferentes Programas de Melhoramento. Se for considerado que as linhagens, de um modo geral, refletem o que existe nas populações, isto é, quanto maior a frequência de gens para resistência numa população, maior o número de linhagens resistentes que podem ser obtidas dela e que a resistência de um híbrido é proporcional ao número de linhagens que o compõem (2, 57), observa-se que, provavelmente as populações utilizadas para obtenção das linhagens deveriam apresentar baixa resistência às podridões do colmo, considerando-se a sintomatologia interna. Por outro lado, as linhagens também não devem ter sido selecionadas para resistência às podridões do colmo uma vez que a menor média encontrada dentro do grupo 2 (híbridos duplos) situou-se na classe de moderadamente suscetível, de acordo com a classificação apresentada na tabela 2, do texto.

Um outro fator que vem reforçar a idéia de que não deve ter havido seleção das linhagens para resistência às podridões do colmo é a existência de cultivares nos grupos 1 e 2, com médias semelhantes ou muito próximas uma das outras.

Estes resultados mostram a importância de se fazer o melhoramento para resistência às doenças primeiro nas populações. Obtendo-se populações mais resistentes, posteriormente poder-se-á obter híbridos de variedades e "top-crosses" comerciais também mais resistentes. As populações me

lhoradas servirão também de fonte de linhagens resistentes, as quais seriam utilizadas na síntese dos híbridos duplos.

Analisando-se nos dois grupos de cultivares, o efeito das inoculações sobre a frequência das plantas nas diferentes classes de resistência e suscetibilidade, segundo DeVAY e outros (16), observa-se que, para inoculações feitas somente com F. moniliforme (gráfico 1), as notas de maior frequência foram aquelas correspondentes à categoria de plantas apresentando reações de suscetibilidade, tendo sido possível detectar plantas resistentes a este patógeno nos dois grupos. Este fato é de grande significado uma vez que permite a seleção de plantas resistentes a F. moniliforme dentro do grupo com maior variabilidade genética.

Quando foi inoculado somente D. maydis (gráfico 2), as notas de maior frequência dentro de cada grupo foram também aquelas correspondentes à categoria de plantas apresentando reações de suscetibilidade. Mas neste caso a frequência das notas correspondentes à categoria de plantas resistentes foi praticamente nula. Na inoculação em conjunto das suspensões de D. maydis e F. moniliforme (gráfico 3), as frequências das notas foram semelhantes às aquelas apresentadas pela inoculação de D. maydis isoladamente. Este resultado demonstrou que, ou a frequência de plantas resistentes a D. maydis é praticamente nula, ou a metodologia de avaliação da resistência não foi adequada.

Os resultados obtidos para a inoculação conjunta dos dois patógenos podem ser explicados com base na patogenicidade dos fungos inoculados. Assim, D. maydis apresentou-se como sendo mais patogênico que F. moniliforme, pois, segundo CALVERT e outros (9) e MICHAELSON (44), quando dois ou mais fungos de patogenicidade diferentes são inoculados juntos, o resultado se assemelha àquele produzido pelo fungo mais patogênico, quando inoculado sozinho.

Esta diferença em patogenicidade talvez seja responsável pelo fato de não ter sido encontrada diferenças significativas entre as médias das lesões obtidas pela inoculação com D. maydis isoladamente ou em

mistura com F. moniliforme e ter sido encontrada significância entre estas duas médias e aquela obtida pela inoculação com F. moniliforme.

Por outro lado, analisando-se a frequência de plantas resistentes a F. moniliforme e D. maydis dentro de um mesmo grupo de cultivares, foi observado que a frequência de plantas resistentes a F. moniliforme foi maior que aquela apresentada para D. maydis.

Para este fato pode-se levantar, por um lado, a hipótese de que o mecanismo de resistência aos dois patógenos seja diferente uma vez que nos grupos 1 e 2 foram detectadas plantas resistentes a F. moniliforme, não o sendo a D. maydis. Por outro lado, considerando-se que a substância isolada de colmos de plantas de milho inibia o desenvolvimento de F. moniliforme e D. maydis "in vitro" (33, 80), pode-se pensar que o mecanismo de resistência à colonização seja o mesmo. Assim, a diferença no comportamento dos cultivares provavelmente seja devido à maior patogenicidade de D. maydis, associada ao potencial de inóculo utilizado. Experimentos focalizando este aspecto poderão resolver melhor a questão.

## 6. CONCLUSÕES

Do presente trabalho pode-se concluir que:

- a) Para as condições em que foi realizado a experimentação preliminar, a avaliação da resistência para patógenos do colmo com base na sintomatologia interna, não deve ser feita antes de decorridas 4 semanas após as inoculações, quando estas são realizadas até uma semana após 50% das plantas apresentarem pendão.
- b) A severidade dos sintomas internos em plantas testemunhas, obtidos mediante ferimento sem introdução de inóculo, difere quantitativamente daquela obtida por inoculações com patógenos, quando avaliados até 4 semanas após as inoculações.
- c) Considerando-se as três inoculações em conjunto, há necessidade de melhoramento para resistência às podridões do colmo nos cultivares dentro do grupo de maior variabilidade genética.
- d) Na concentração de  $8 \times 10^6$  conídios/ml de suspensão, foi possível detectar plantas resistentes a F. moniliforme nos dois grupos, não o sendo a

D. maydis.

e) D. maydis mostrou-se mais patogênico que F. moniliforme.

## 7. RESUMO

Foram testados 25 cultivares de milho através da inoculação artificial do colmo de plantas com uma suspensão de conídios de Diplodia maydis e Fusarium moniliforme, isoladamente e em conjunto.

As inoculações foram feitas no centro do 1º entrenó alongado acima do solo, aproximadamente 3 semanas após 50% das plantas apresentarem pendão, utilizando-se para isto uma "bengala de inoculação". A concentração de conídios utilizada foi de  $8 \times 10^6$  conídios/ml por suspensão.

As plantas foram avaliadas com base na sintomatologia interna, aproximadamente 4 semanas após as inoculações, utilizando-se uma escala de notas variando de 1 a 5.

Os cultivares foram agrupados em 3 grupos de acordo com a sua variabilidade genética a saber: grupo das populações, híbridos de variedades e "top-crosses" comerciais; grupo dos híbridos duplos e um 3º grupo cujo tipo de material genético não foi possível identificar.

Considerando-se as três inoculações em conjunto, os resultados mostraram a necessidade de melhoramento para resistência às podridões do colmo no grupo de maior variabilidade genética. Na concentração de  $8 \times 10^6$  conídios/ml de suspensão, foi possível detectar plantas resistentes a F. moniliforme não o sendo a D. maydis. Este último mostrou-se mais patogênico que F. moniliforme.

## 8. SUMMARY

Twenty-five cultivars of corn were evaluated for resistance to Diplodia maydis and Fusarium moniliforme by artificially inoculating the culm with suspensions of conidia of these two organisms separately and together.

The inoculations were made in the center of the first internode above the soil surface approximately four weeks after tasseling, utilizing an "inoculation cane". The concentration of conidia used was  $8 \times 10^6$  conidia per milliliter.

The plants were evaluated approximately four weeks after inoculation by cutting the internode longitudinally and assigning a value of one to five.

The cultivars were grouped into 3 categories in accordance with their genetic variability, as follows: a group of populations, hybrids of varieties and commercial "top-crosses"; a group of double crosses; and a

third group in which it was not possible to identify the type of genetic material.

Considering the three inoculations the results showed that the more genetically variable group needs to be bred for resistance to culm rot. With the concentration of  $8 \times 10^6$  conidia per milliliter it was possible to detect plants resistant to F. moniliforme that was not true with D. maydis. The latter was shown to be more pathogenic than the former.

## 9. BIBLIOGRAFIA CITADA

- 1 - ABNEY, T.S. Influence of nutrition on stalk rot development of Zea mays L. Phytopathology, St. Paul, 61:1125-9, 1971
- 2 - ANDREW, R.H. Breeding for stalk rot resistance in maize. Euphytica, Wageningen, 3(1):43-8, 1954.
- 3 - BANSAL, R.K. Study of the factors associated with resistance to stalk rot Diplodia zeae (Schw.) LéV., in corn (Zea mays L.). Diss. Abstr., 29(8):2712. In: Review of applied mycology, England, 49:86, 1970.
- 4 - BARNES, J.M. Extraction and bioassay of an antifungal substance from inbreds and hybrids of corn differing in susceptibility to G. zeae. Phytopathology, St. Paul, 49:533, 1959.
- 5 - BEMILLER, J.N. & PAPPELIS, A.J. Relationship of glycoside content to corn stalk rot resistance. Phytopathology, St. Paul, 54:888, 1964.

- 6 - BeMILLER, J.N. & PAPPELIS, A.J. 2,4-dihydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3-one glucoside in corn. I. Relation of water soluble, 1-butanol-soluble glycoside fraction content of pith cores and stalk rot resistance. Phytopathology, St. Paul, 55:1236-40, 1965.
- 7 - BOOTH, C. The genus Fusarium. Kew, Survey, C.M.I., 1971. 238 p.
- 8 - CALVERT, O.H. & ZUBBER, M.S. Improved technique for inoculating stalk rots in corn (Zea mays L.). Agronomy Journal, Madison, 58(4):456, 1966.
- 9 - \_\_\_\_\_, ZUBER, M.S.; LOESCH, P.J. Effects of combining isolates of Diplodia maydis on the amount of stalk and ear rotting in corn. Agronomy Abstract, Madison, 1966. In: Plant Breeding Abstract, 39:337, 1969.
- 10 - CAPPELINI, R.A. A comparison of techniques and sites of inoculation in fields corn artificially inoculated with Gibberella zeae (Schw.) Petch. Plant Dis. Repr., Beltsville, 43:177-9, 1959.
- 11 - CHRISTENSEN, J.J. & SCHNIDER, C.L. European corn borer (Pyrausta nubilalis Hbn.) in relation to shank, stalk and ear rots of corn. Phytopathology, St. Paul, 40:284,91, 1950.
- 12 - CLARK, R.L. Resistance to Diplodia stalk rot in plant in production corn (Zea mays L.), 1966-1968. Plant Dis. Repr., Beltsville, 54(7):624-6, 1970.
- 13 - CLONINGER, F.D.; ZUBER, M.S.; CALVERT, O.H.; LOESCH, FILHO, P.J. Methods of evaluating stalk quality in corn. Phytopathology, St. Paul, 60:295-300, 1970.
- 14 - CRAIG, J. Physiological, chemical and morphological plant factors in Zea mays L. associated with Diplodia stalk-rot reaction. Diss. Abstr. 21(6):1322-3, 1960. In: Review of applied mycology, England, 40:678, 1961.

- 15 - CRAIG, J. & HOOKER, A.L. Diplodia rot and stalk rot of dent com. Phytopathology, St. Paul, 51:382-5, 1961.
- 16 - DeVAY, J.E.; COVEY, R.P.; LINDEN, D.B. Methods of testing for diseases resistance in the corn disease nurseries at St. Paul and comparison of 110 lines of corn for resistance to diseases important in the North Central Region. Plant Dis. Repr., Beltsville, 41(8):699-702, 1957.
- 17 - DHANRAJ, K.S. Dry rot of maize caused by Diplodia macrospora Earle. Indian Phytopathology, Nova Delhi, 19(1):120, 1966. In: Review of applied mycology, England, 47(1):33, 1968.
- 18 - EUA. USDA. A compendium of corn diseases. Minnesota, 1973. 64 p.
- 19 - EL-ROBY, M.M. & RUSSEL, W.A. Locating genes determining resistance to Diplodia maydis in maize by using chromosomal translocation. Canad. J. Gen. Cytol., Ottawa, 8(2):233-40, 1966.
- 20 - FERGASON, V.L. Inheritance of Diplodia stalk rot resistance and the interrelation of ear and stalk rot in maize. Diss. Abstr., 25:3802-3, 1965.
- 21 - FOLEY, D.C. The response of corn to inoculation with Diplodia zeae and Gibberella zeae. Phytopathology, St. Paul, 50:146-50, 1960.
- 22 - \_\_\_\_\_ & WERNHAN, C.C. The effect of fertilizers on stalk rot of corn in Pennsylvania. Phytopathology, St. Paul, 47:11-2, 1957.
- 23 - GALLI, Ferdinando; TOKESHI, Hasime; CARVALHO, P.C.T. de; BALMER, Eric; KIMATI, Hiroshi; CARDOSO, Caio O.N.; SALGADO, Clelio L. Manual de fitopatologia, São Paulo, Ceres, 1968. 640 p.
- 24 - GRISENKO, G.V. Some properties of Diplodia resistance in maize. In: ALL-UNION CONFERENCE ON IMMUNITY IN AGRICULTURAL PLANTS. 4<sup>a</sup>, KISINEY, RUSSIA, 1965. p. 217-218.

- 25 - GROGAN, C.O. & BOLING, Max. Proposed Diplodia stalk rot inoculating technique for maize. Plant Dis. Repr., Beltsville, 52(8):611-2, 1968.
- 26 - HEALD, F.D.; WILCOX, E.M.; POOL, V.W. The life-history and parasitism of Diplodia zeae (Schw.) Lév., Neb. Agric. Exp. Sta. Ann. Rpt. 22:1-7, 1909. Citado por KOEHLER, B. Corn stalk rots in Illinois. Illinois, Agric. Exp. Sta. Bull., 1960. (Bull., 656)
- 27 - HOFFBECK, L.J. Inheritance of resistance to Diplodia zeae, Gibberella zeae on stalk breakage in corn. Diss. Abstr., 22(9):2951-2, 1952. In: Review of applied mycology, England, 42:17, 1963.
- 28 - HOLBERT, J.R.; HOPPE, P.E.; SMITH, L.A. Some factors affecting infection with and spread of Diplodia zeae in the host tissue. Phytopathology, St. Paul, 25:1113-4, 1935.
- 29 - HOOKER, A.L. Factors affecting the spread of Diplodia zeae in inoculated corn stalks. Phytopathology, St. Paul, 47:196-9, 1957.
- 30 - \_\_\_\_\_. Association of resistance to several seedling root, stalk, and ear diseases in corn. Phytopathology, St. Paul, 46:379-84, 1956.
- 31 - HORNBY, D. & ULLSTRUP, A.J. Fungal populations associated with maize roots. Composition and comparison of microflora from genotypes differing in root rot resistance. Phytopathology, St. Paul, 57:869-75, 1967.
- 32 - JOHANN, H. Diplodia macrospora on corn in Brazil. Plant Dis. Repr., Beltsville, 19:9-10, 1935.
- 33 - \_\_\_\_\_ & DICKSON, A.D. A soluble substance in corn stalks that retards growth of Diplodia zeae in culture. J. Agr. Res., 71:89-110, 1945.

- 34 - JUGENHEIMER, Robert W. Hybrid maize breeding and seed production. Rome, FAO, 1958. 63 p.
- 35 - KAPPELMAN, Jr., A.J. & THOMPSON, D.L. Inoculation and rating procedures for corn stalk rot in the South. Plant Dis. Repr., Beltsville, 50(9):655-9, 1966.
- 36 - \_\_\_\_\_; THOMPSON, D.L.; NELSON, R.R. Virulence of 20 isolates of Diplodia zeae as revealed by stalk rot development in corn. Crop Sci., Madison, 5(6):541-3, 1965.
- 37 - KINGSLAND, Gradydon C. & WERNHAN, Clifford C. Etiology of stalk rots of corn in Pennsylvania. Phytopathology, St. Paul, 52:519-23, 1962.
- 38 - KOEHLER, B. Corn ear rots in Illinois. Illinois, Agric. Exp. Sta. Bull., 1959. 87 p. (Bull., 639)
- 39 - \_\_\_\_\_. Cornstalk rots in Illinois. Illinois, Agric. Exp. Sta. Bull., 1960. 90 p. (Bull., 656)
- 40 - LEOPOLD, A.C. Senescence in plant development. Science, Washington, 134(3492):1722-32, 1961.
- 41 - LITTLEFIELD, L.J. & WILCOXSON, R.D. Studies on necrotic lesions in corn stalks. Amer. J. Bot., Columbus, 49(10):1072-8, 1962.
- 42 - MACNEW, G.L. The nature, origin, and evolution of parasitism. In: HORSFALL, J.G. & DIMOND, A.E. Plant pathology. New York, Academic Press, 1960. v. 3, p. 19-69.
- 43 - MANICA, Ivo. Irrigação em sulco e sua influência no crescimento e produção de planta matriz de bananeira (Musa cavendishii Lambert) ou Nanicão. Piracicaba, ESALQ, 1973. 53 p. (Tese Doutorado).
- 44 - MICHAELSON, Marle E. Factors affecting development of stalk rot of corn by Diplodia zeae and Gibberella zeae. Phytopathology, St. Paul, 47:499-503, 1957.

- 45 - MICHAELSON, Marle E. & CHRISTENSEN, J.J. Reduction in yield of corn due to stalk rot, Phytopathology, St. Paul, 43:499, 1953.
- 46 - MORTIMORE, C.G. & WARD, G.M. Rot and stalk rot of corn in Southern Ontario. III. Sugar level as a measure of plant vigor and resistance. Can. J. Plant Sci., Ottawa, 44:451-7, 1964.
- 47 - \_\_\_\_\_ & WALL, R.E. Stalk rot of corn in relation to plant population and grain yield. Can. J. Plant Sci., Ottawa, 45:487-92, 1965.
- 48 - OTTO, Harley J. & EVERETT, Herbert L. Influence of nitrogen and potassium fertilization on the incidence of stalk rot of corn. Agr. J., Madison, 48:301-5, 1956.
- 49 - PAPPELIS, A.J. Relationship of seasonal changes in pith condition ratings and density to Gibberella stalk rot of corn. Phytopathology, St. Paul, 52:623-6, 1965.
- 50 - \_\_\_\_\_. Effect of root and leaf injury on cell death and stalk rot susceptibility in corn. Phytopathology, St. Paul, 60(2):356-7, 1970.
- 51 - \_\_\_\_\_. Corn stalk rot symptoms; induced by root injury. Phytopathology, St. Paul, 53:624-5, 1963.
- 52 - \_\_\_\_\_ & SMITH, F.G. Nature of resistance to Diplodia stalk rot of corn. Phytopathology, St. Paul, 50:650, 1960.
- 53 - \_\_\_\_\_ & SMITH, F.C. Relationship of water content and living cells to spread of Diplodia zeae in corn stalks. Phytopathology, St. Paul, 53:1100-5, 1963.
- 54 - PARADELLA, FILHO, Oswaldo. Avaliação do comportamento de populações de milho (Zea mays L.) inoculadas artificialmente com os agentes das podridões do colmo e da espiga. Piracicaba, ESALQ, 1972. 44 p. (Tese MS).

- 55 - PARKER, D.T. & BURROWS, W.C. Root and stalk rot in corn as affected by fertilizer and tillage treatment. Agric. J., Madison, 51(7):414-7, 1959.
- 56 - PIMENTEL-GOMES, F. Curso de estatística experimental. 2ª ed. Piracicaba, ESALQ, 1963. 384 p.
- 57 - POEHLMAN, J. Milton. Breeding corn. In: \_\_\_\_\_. Breeding field crop. New York, Henry Holt, 1959. Cap. 13, p. 241-77.
- 58 - RAM, Asha; RAM, Chhatthoo; ROCHA, Herminio Maia. A new disease of maize in Bahia, Brazil, with special reference to its causal organism. Turrialba, Turrialba, 23(2):227-30, 1973.
- 59 - ROGER, L. Phytopathologie de pays chauds. Paris, Paul Le Chevalieur, 1953. t. 2, p. 1743-49.
- 60 - SAVOIA, H.J.; GODOY, E.F.; BRUNI, D. Memoria de la quinta reunion de mayz 27 y 28 de iulio de 1960 en la Estación Experimental Pergamino. p. 21-27. 1950. In: Review of applied mycology, England, 30:607, 1951.
- 61 - SAYERE, J.D.; MORRIS, V.H.; RIGHEY, F.D. The effect of preventing fruiting and of reducing the leaf area on the accumulation of sugars in the corn stem. J. Amer. Soc. Agron., Madison, 23:751-3, 1931.
- 62 - SHEAR, C.L. & STEVENS, N.E. Sphaeria zeae (Diplodia zeae) and confused species. Mycologia, New York, 27:467-77, 1935.
- 63 - SIMPSON, W.R. Influence of cultural practices on the incidence of stalk rot of corn. Plant Dis. Repr., Beltsville, 51(7):540-2, 1967.
- 64 - SMITH, A.L. & HOLBERT, J.R. Diplodia stalk and ear rot studies of dent corn. Phytopathology, St. Paul, 22:24, 1932.
- 65 - \_\_\_\_\_.; HOPPE, P.E.; HOLBERT, J.R. Development of a differential inoculation technique for Diplodia stalk rot of corn. Phytopathology, St. Paul, 28:497-504, 1938.

- 66 - SNYDER, W.X. & HANSEN, H.N. The species concept in Fusarium with reference to discolor and other sections. Am. J. Bot., Columbus, 32:657-66, 1945.
- 67 - SUMMER, D.R. Ecology of corn stalk rot in Nebraska. Phytopathology, St. Paul, 58:755-60, 1968.
- 68 - \_\_\_\_\_ The effect of soil moisture on corn stalk rot. Phytopathology, St. Paul, 58:761-5, 1968.
- 69 - TAYLOR, Gordon, S. Stalk rot development in corn following the european corn borer. Phytopathology, St. Paul, 42:20-1, 1952.
- 70 - THAYER, Paul & WILLIAMS, L.E. Effect of nitrogen, phosphorus and potassium concentrations on the development of Gibberella stalk and root-rot of corn. Phytopathology, St. Paul, 50:212-4, 1960.
- 71 - TOUSSOUN, T.A. & NELSON, P.E. A pictorial guide to the identification of Fusarium species according to the taxonomic system of Snyder and Hansen. Pennsylvania, State University, 1968. 51 p.
- 72 - TUIITE, John. Plant pathological methods. Fungi and bacteria. Minneapolis, Burgers Publishing, 1969. 239 p.
- 73 - ULLSTRUP, A.J. Disease of corn. In: SPRAGUE, G.F., ed. Corn and corn improvement. New York, Academic Press, 1955. p. 465-536.
- 74 - Van REEN, Robert & SINGLETON, W.R. Sucrose content in the stalks of maize inbreds. Agr. J., Madison, 44(11):610-14, 1952.
- 75 - WALL, R.E. & MORTIMORE, C.G. The growth pattern of corn in relation to resistance to root and stalk rot. Can. J. Bot., Ottawa, 43(10):1277-83. 1965.
- 76 - WANDERWEYEN, A. Preparation en laboratoire de grandes quantités d'ingrédient de Diplodia zeae. Parasitica, 16(1):14-5, 1960. In: Review of applied mycology, England, 39:571. 1960.

- 77 - WHITEHEAD, Marvin D. Sorghum grain, a medium suitable for the increase of inoculum for studies of soil borne and certain other fungi. Phytopathology, St. Paul, 47:450, 1957.
- 78 - WHITNEY, N.J. & MORTIMORE, C.G. An antigungal substance in the corn plant and its effect on growth of two stalk-rotting fungi. Nature, London, 183:341, 1959.
- 79 - \_\_\_\_\_. Evaluation of a bio-assay of other extracts from corn (Zea mays L.) as a mean of screening inbreds for resistance to root and stalk rot. Can. J. Pl. Sci., Ottawa, 43:302-7, 1962.
- 80 - \_\_\_\_\_. Isolation of the antifungal substance, 6-methoxy benzoxazolinone, from field corn (Zea mays L.) in Canada. Nature, London, 184:1320, 1960.
- 81 - WILLIAMS, L.E. & MENON, S.K. A corn borer technique of inoculation for plants with stalk-rot fungus. Plant Dis. Repr., Beltsville, 41(2): 111-4, 1957.
- 82 - WYSONG, David S. & HOOKER, A.L. Relation of soluble solids content and pith condition to Diplodia stalk rot in corn hybrids. Phytopathology, St. Paul, 56:26-35, 1966.
- 83 - YOUNG, Jr., H.C. The toothpick method of inoculating corn for ear and stalk rots. Phytopathology, St. Paul, 33:16, 1943.
- 84 - YOUNIS, Salah, E.A.; DAHAB, M.K. Abo-El; MALLAH, G.S. Genetic studies of the resistance to Fusarium stalk-rot in maize. Ind. J. Gen. Pl. Breed., Nova Delhi, 29(3):418-25, 1969.
- 85 - ZUBER, M.S.; CROGAN, G.O.; MICHAELSON, M.E.; GEHRKE, C.W.; MONGE, J. Ferer. Studies of the interrelation of field stalk lodging, two stalk rotting fungi, and chemical composition of corn. Agr. J., Madison, 49:328-31, 1957.

TABELA 1 - Isolados de D. maydis e F. moniliforme utilizados no presente trabalho e suas origens

Patógeno	Nº do isolado	Origem dos isolados	Local de isolamento
<u>D. maydis</u>	1	Campinas, SP (IAC)*	Espiga
	2	Campinas, SP (IAC)	Espiga
	3	Desconhecida	Espiga
<u>F. moniliforme</u>	1	Campinas, SP (IAC)	Espiga
	2	Campinas, SP (IAC)	Espiga
	3	Lavras, MG	Espiga
	4	Campinas, SP (IAC)	Espiga
	5	Bandeirantes, PR	Raízes
	6	Campinas, SP (IAC)	Espiga
	7	Jacarezinho, PR	Espiga
	8	Campinas, SP (IAC)	Espiga
	9	Piracicaba, SP	Espiga

\* Isolados com uma mesma origem resultaram de isolamentos feitos em diferentes espigas

TABELA 2 - Escala de notas correspondentes à % da área dos entrenós apresentando sintomas e respectivas categorias de resistência e suscetibilidade [DeVAY e outros (16)]

Escala	% da área apresentando sintomas	Categoria de resistência e suscetibilidade
1	até 25%	resistente
2	26 - 50%	moderadamente resistente
3	51 - 75%	moderadamente suscetível
4	76 - 100%	suscetível
5	sintomas se estendendo aos entrenós vizinhos	suscetível

TABELA 3 - Cultivares utilizados na experimentação preliminar e no experimento de avaliação da resistência a agentes causadores de podridões do colmo

Cultivares	Origem
<u>Experimentação preliminar</u>	
Opaco Amarelo Agroceres 504	ESALQ - Inst. de Genética Agroceres
<u>Experimento para avaliação da resistência aos agentes causadores de podridões do colmo</u>	
Grupo 1 - Populações, híbridos de variedades e "top-crosses" comerciais	
Dentado Composto C-MI	ESALQ - Inst. de Genética
ESALQ HV 1 MII	ESALQ - Inst. de Genética
Grãos de Ouro 07	Grãos de Ouro S/A
IAC HV 2	IAC - SMCD
Centrilmex HS 4 MII	ESALQ - Inst. de Genética
IPEACO HV 53	IPEACO - Sete Lagoas, MG
IAC HV 37	IAC - Seção de Genética
Grãos de Ouro 05	Grãos de Ouro S/A
Flint Composto C-MI	ESALQ - Inst. de Genética
Grãos de Ouro 06	Grãos de Ouro S/A
Azteca Prolífico VIII	IAC - Seção de Genética
IAC Phoenix 98	IAC - SMCD
IAC HV 310	IAC - Seção de Genética
Grupo 2 - Híbridos duplos	
IAC Hmd 7974	IAC - SMCD
Grãos de Ouro 02	Grãos de Ouro S/A
Agroceres 152	Agroceres
SAVE 231	Sec. Agric. do RS
IAC Hmd 6999 B	IAC - SMCD
Agroceres 256	Agroceres
Agroceres 257	Agroceres
Agroceres 152/5	Agroceres
Grupo 3 - Cargill Agrícola S/A	
Cargill 5005	Cargill
Cargill 111-A	Cargill
Cargill 300	Cargill
Cargill 111	Cargill

TABELA 4 - Média das avaliações dos sintomas internos em colmos de milho inoculados com F. moniliforme e D. maydis e plantas testemunhas com ferimento

Cultivares	Avaliação dos sintomas internos			Média Geral
	<u>Fusarium</u>	<u>Diplodia</u>	Testemunha com ferimento	
1ª Época				
Agrocerees 504	2,725*	3,495	1,712	2,644
Opaco Amarelo	2,312	2,925	1,267	2,168
2ª Época				
Agrocerees 504	3,662	3,460	2,762	3,294
Opaco Amarelo	3,180	3,332	2,000	2,837
3ª Época				
Agrocerees 504	3,555	3,370	3,065	3,330
Opaco Amarelo	3,120	3,542	3,162	3,274
Total	3,092	3,354	2,328	

\* Médias de avaliações de 4 repetições

Para as avaliações dos sintomas internos foi utilizada a seguinte escala de notas: 1 = até 25% da área do entrenó inoculado apresentando sintomas; 2 = de 26 a 50%; 3 = de 51 a 75%; 4 = de 76 a 100%; 5 = lesões se estendendo para os entrenós vizinhos daquele inoculado

TABELA 5 - Análise de variância para a sintomatologia interna de colmos de milho, avaliada em diferentes épocas após inoculações com F. moniliforme e D. maydis e "inoculação" com água, em plantas teste munhas com fermento

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F
Repetições dentro de épocas	9	0,3914	0,0435	
Cultivares	1	1,9405	1,9405	9,76**
Inoculações	2	13,6038	6,8019	34,21**
Épocas de avaliação	2	10,3273	5,1637	25,97**
Cultivares x inoculações	2	0,2370	0,1185	0,60 n.s.
Cultivares x épocas	2	0,6899	0,3450	1,73 n.s.
Inoculações x épocas	4	4,4866	1,1217	5,64**
Cultivares x inoculações x épocas	4	0,6438	0,1610	0,81 n.s.
Resíduo	45	8,9478	0,1988	
Total	71	41,2681		
C.V. = 15,27%				

\*\* Significância ao nível de 1% de probabilidade

n.s. = Não significante

TABELA 6 - Análise de variância para os desdobramentos dos graus de liberdade para inoculações e a interação inoculações x épocas

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F
Repetições dentro de épocas	9	0,3914	0,0435	
Cultivares	1	1,9405	1,9405	9,76**
Inoculações dentro época 1	2	11,9855	5,9927	30,14**
Inoculações dentro época 2	2	5,6332	2,8166	14,17**
Inoculações dentro época 3	2	0,4717	0,2358	1,19 n.s.
Épocas de avaliação	2	10,3273	5,1637	25,97**
Cultivares x inoculações	2	0,2370	0,1185	0,59 n.s.
Cultivares x épocas	2	0,6899	0,3450	1,73 n.s.
Cultivares x inoculações x épocas	4	0,6438	0,1610	0,81 n.s.
Resíduo	45	8,9478	0,1988	
Total	71	41,2681		
C.V. = 15,27%				

\*\* Significância ao nível de 1% de probabilidade

n.s. = Não significante

TABELA 7 - Média das avaliações dos sintomas internos apresentados pelos colmos de 25 cultivares de milho, aos diferentes tipos de inoculação

Cultivares	Inoculações			Média Geral
	<u>Fusarium</u>	<u>Diplodia</u>	<u>Diplodia + Fusarium</u>	
Grupo 1 - Populações, híbridos de variedades e "top-crosses" comerciais				
Dentado Composto C-MI	2,617*	3,850	3,295	3,254
ESALQ HV 1 MII	2,540	4,117	4,105	3,587
Grãos de Ouro 07	2,745	4,190	4,170	3,698
IAC HV 2	2,940	4,122	4,170	3,739
Centralmex HS 4 MII	2,760	4,265	4,192	3,744
IPEACO HV 53	2,770	4,125	4,347	3,747
IAC HV 37	2,742	4,195	4,430	3,791
Grãos de Ouro 05	2,907	4,245	4,265	3,806
Flint Composto C-MI	2,750	4,352	4,410	3,837
Grãos de Ouro 06	2,915	4,290	4,320	3,841
Azteca Prolífico VIII	3,337	4,082	4,225	3,881
IAC Phoenix 98	3,150	4,487	4,137	3,933
IAC HV 310	3,385	4,567	4,397	4,117
Grupo 2 - Híbridos duplos				
IAC Hmd 7974	2,792	4,382	4,380	3,852
Grãos de Ouro 02	3,172	4,310	4,280	3,921
Agrocerec 152	3,112	4,542	4,487	4,047
SAVE 231	3,387	4,405	4,380	4,057
IAC Hmd 6999 8	3,330	4,512	4,332	4,058
Agrocerec 256	3,490	4,485	4,435	4,137
Agrocerec 257	3,487	4,467	4,565	4,173
Agrocerec 152/5	3,715	4,520	4,600	4,278
Grupo 3 - Cargill Agrícola S/A				
Cargill 5005	2,810	4,270	4,367	3,816
Cargill 111-A	3,292	4,265	4,312	3,957
Cargill 300	3,120	4,400	4,385	3,968
Cargill 111	3,217	4,377	4,492	4,029

\* Média de avaliações de 4 repetições

TABELA 8 - Análise de variância para os sintomas internos observados em colmos de milho de diferentes origens, quando inoculados com os agentes causadores de podridões do colmo

Fontes de variação	GL	SQ	QM	F
Blocos	3	4,2392	1,4131	12,62
Cultivares (A)	24	12,9979	0,5416	4,83**
Entre grupos	2	5,4281	2,7141	24,23**
$G_1 \times G_2$	1	5,2759	5,2759	47,11**
Dentro grupo 1	12	5,7277	0,4773	4,26**
Dentro grupo 2	7	1,5490	0,2213	1,97 n.s.
Dentro grupo 3	3	0,2931	0,0977	0,87 n.s.
Resíduo (a)	72	8,0613	0,1120	
Parcelas	99	25,2984		
Patógenos (B)	2	103,7420	51,8710	416,63**
Interação (A x B)	48	5,2567	0,1095	0,88 n.s.
Resíduo (b)	149	18,5556	0,1245	
Sub-parcelas	298	152,8527		
C.V. (a) = 8,60%		C.V. (b) = 9,07%		

\*\* Significância ao nível de 5% de probabilidade

n.s. = Não significante

TABELA 9 - Frequências de notas, dadas em % de plantas, para cada cultivar, quando inoculado com F. moniliforme

Cultivares	Notas				
	1	2	3	4	5
Grupo 1 - Populações, híbridos de variedades e "top-crosses" comerciais					
Dentado Composto C-MI	25,93	18,52	29,63	22,22	3,70
ESALQ HV 1 MII	15,63	34,38	21,88	26,55	1,56
Grãos de Ouro 07	16,42	28,36	19,40	32,84	2,99
IAC HV 2	15,79	17,54	24,56	35,09	7,02
Centralmex HS 4 MII	21,13	16,90	21,13	40,85	0,00
IPEACO HV 53	11,67	25,00	40,00	20,00	3,33
IAC HV 37	11,27	32,39	28,17	25,35	2,82
Grãos de Ouro 05	23,19	14,49	15,94	42,03	4,35
Flint Composto C-MI	20,15	19,23	20,51	35,90	3,85
Grãos de Ouro 06	9,25	33,33	20,63	31,75	4,76
Azteca Prolífico VIII	11,11	16,67	18,06	50,00	4,17
IAC Phoenix 98	16,67	17,86	20,24	27,38	17,86
IAC HV 310	5,33	14,67	22,67	53,33	4,00
Média	15,68	22,25	23,30	34,10	4,65
Grupo 2 - Híbridos duplos					
IAC Hmd 7974	12,16	27,03	29,73	29,73	1,35
Grãos de Ouro 02	5,00	15,00	38,75	40,00	1,25
Agrocerec 152	8,22	19,18	28,77	36,99	6,85
SAVE 231	5,80	13,04	24,64	50,72	5,80
IAC Hmd 6999 B	11,27	8,45	25,35	39,44	15,49
Agrocerec 256	5,71	14,29	18,57	45,71	15,71
Agrocerec 257	3,49	10,47	22,09	59,30	4,65
Agrocerec 152/5	0,00	9,41	22,35	50,59	17,65
Média	6,45	14,60	26,28	44,06	8,59
Grupo 3 - Cargill Agrícola S/A					
Cargill 5005	19,77	19,77	23,26	32,56	4,65
Cargill 111-A	5,88	15,29	28,24	44,71	5,88
Cargill 300	7,89	22,37	22,37	39,47	7,89
Cargill 111	2,33	20,93	30,23	45,35	1,16
Total	11,06	19,07	24,57	39,19	6,11

TABELA 10 - Frequências de notas, dadas em % de plantas, para cada cultivar, quando inoculado com D. maydis

Cultivares	Notas				
	1	2	3	4	5
Grupo 1 - Populações, híbridos de variedades e "top-crosses" comerciais					
Dentado Composto C-MI	0,00	0,00	19,23	69,23	11,53
ESALQ HV 1 MII	0,00	1,41	4,23	76,06	18,31
Grãos de Ouro 07	0,00	1,39	1,39	75,00	22,22
IAC HV 2	0,00	1,49	4,48	73,13	20,90
Centralmex HS 4 MII	0,00	1,41	0,00	69,01	29,58
IPEACO HV 53	0,00	1,52	4,55	72,79	21,21
IAC HV 37	1,33	0,00	6,67	60,00	32,00
Grãos de Ouro 05	0,00	1,49	2,99	64,18	31,34
Flint Composto C-MI	0,00	0,00	4,00	48,00	48,00
Grãos de Ouro 06	0,00	1,96	0,00	66,67	31,37
Azteca Prolífico VIII	0,00	1,43	7,14	70,00	21,43
IAC Phoenix 98	0,00	0,00	0,00	51,85	48,15
IAC HV 310	0,00	0,00	1,14	39,77	59,09
Média	0,10	0,93	4,29	64,27	31,28
Grupo 2 - Híbridos duplos					
IAC Hmd 7974	0,00	2,50	2,50	52,50	42,50
Grãos de Ouro 02	0,00	0,00	3,80	59,49	36,71
Agroceres 152	0,00	0,00	2,82	46,48	50,70
SAVE 231	0,00	0,00	0,00	59,49	40,51
IAC Hmd 6999 B	0,00	1,37	0,00	45,21	53,42
Agroceres 256	0,00	0,00	1,35	50,00	48,65
Agroceres 257	0,00	0,00	0,00	51,95	48,05
Agroceres 152/5	0,00	1,16	0,00	48,84	50,00
Média	0,00	0,62	1,31	51,74	46,31
Grupo 3 - Cargill Agrícola S/A					
Cargill 5005	0,00	0,00	2,47	67,90	29,63
Cargill 111-A	1,27	2,53	5,06	50,63	40,51
Cargill 300	0,00	1,32	0,00	56,58	42,11
Cargill 111	0,00	0,00	0,00	62,07	37,93
Total	0,11	0,82	2,47	58,67	37,93

TABELA 11 - Frequências de notas, dadas em % de plantas, para cada cultivar, quando inoculado com uma mistura de F. moniliforme e D. maydis

Cultivares	Notas				
	1	2	3	4	5
<b>Grupo 1 - Populações, híbridos de variedades e "top-crosses" comerciais</b>					
Dentado Composto C-MI	8,00	12,00	12,00	56,00	12,00
ESALQ HV 1 MII	2,74	1,37	2,74	65,75	27,40
Grãos de Ouro 07	0,00	0,00	4,62	73,85	21,54
IAC HV 2	1,37	0,00	10,96	53,42	34,25
Centralmex HS 4 MII	0,00	1,52	4,55	65,15	28,79
IPEACO HV 53	0,00	0,00	4,55	59,09	36,36
IAC HV 37	0,00	0,00	4,05	47,30	48,65
Grãos de Ouro 05	1,41	0,00	1,41	60,56	36,62
Flint Composto C-MI	0,00	1,19	0,00	54,76	44,05
Grãos de Ouro 06	0,00	0,00	2,04	57,14	40,82
Azteca Prolífico VIII	0,00	0,00	4,94	66,67	28,40
IAC Phoenix 9B	3,45	0,00	1,72	63,79	31,03
IAC HV 310	0,00	0,00	2,53	56,96	40,51
Média	1,31	1,24	4,32	60,03	33,11
<b>Grupo 2 - Híbridos duplos</b>					
IAC Hmd 7974	0,00	0,00	1,37	53,42	45,21
Grãos de Ouro 02	0,00	1,32	0,00	68,42	30,26
Agrocerec 152	0,00	0,00	0,00	50,57	49,43
SAVE 231	0,00	0,00	1,33	54,67	44,00
IAC Hmd 6999 B	0,00	1,54	1,54	56,92	40,00
Agrocerec 256	0,00	0,00	0,00	56,94	43,06
Agrocerec 257	0,00	0,00	0,00	43,21	56,79
Agrocerec 152/5	0,00	0,00	0,00	38,10	61,90
Média	0,00	0,35	0,53	52,78	46,33
<b>Grupo 3 - Cargill Agrícola S/A</b>					
Cargill 5005	0,00	1,27	1,27	55,70	41,77
Cargill 111-A	1,35	1,35	2,70	55,41	39,19
Cargill 300	0,00	1,37	1,37	56,16	41,10
Cargill 111	0,00	0,00	0,00	52,50	47,50
<b>Total</b>	<b>0,50</b>	<b>0,62</b>	<b>2,30</b>	<b>56,53</b>	<b>40,04</b>

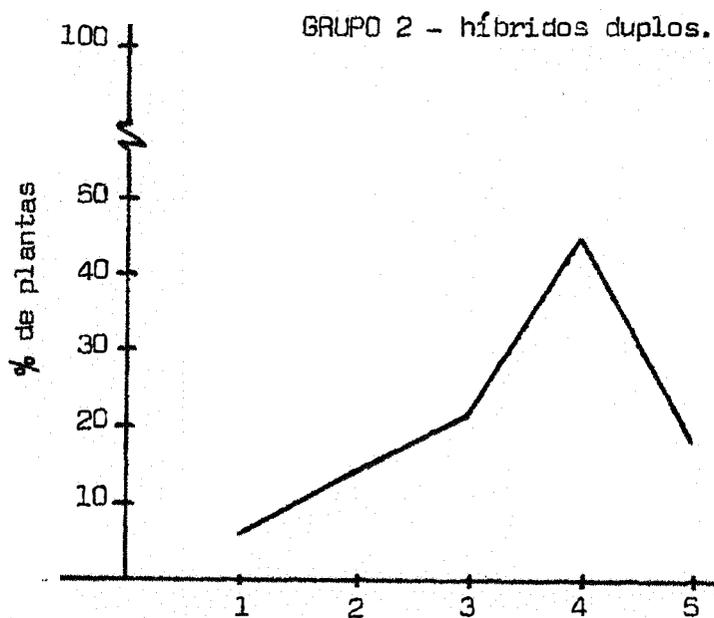
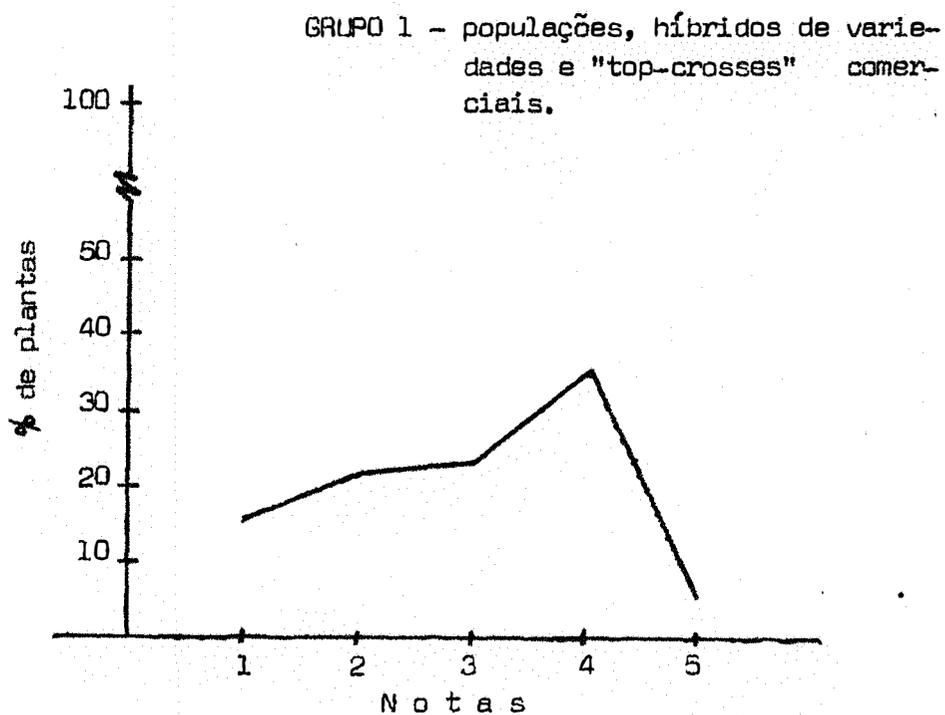
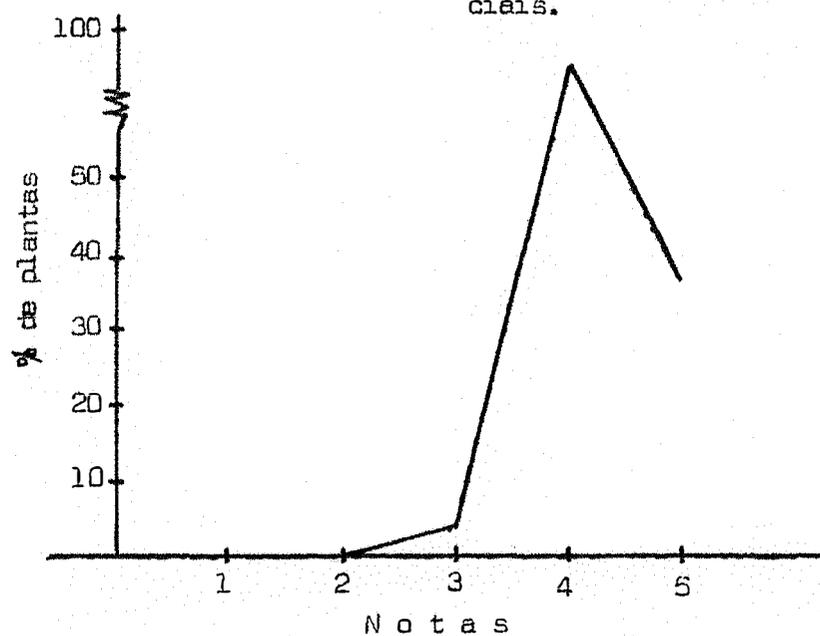


GRAFICO 1 - Médias das frequências das notas dentro de cada grupo, dadas em % de plantas, quando os cultivares foram inoculados com F. moniliforme.

GRUPO 1 - populações, híbridos de variedades e "top-crosses" comerciais.



GRUPO 2 - híbridos duplos.

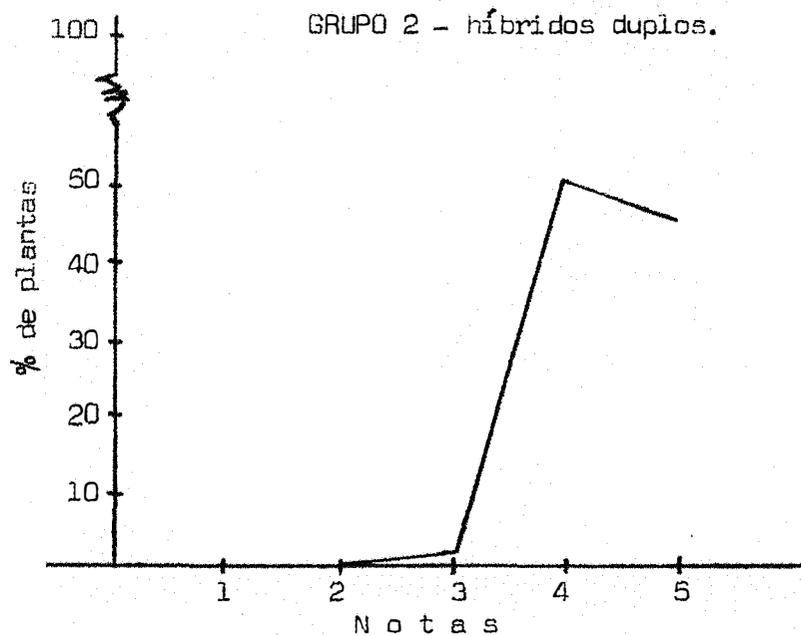
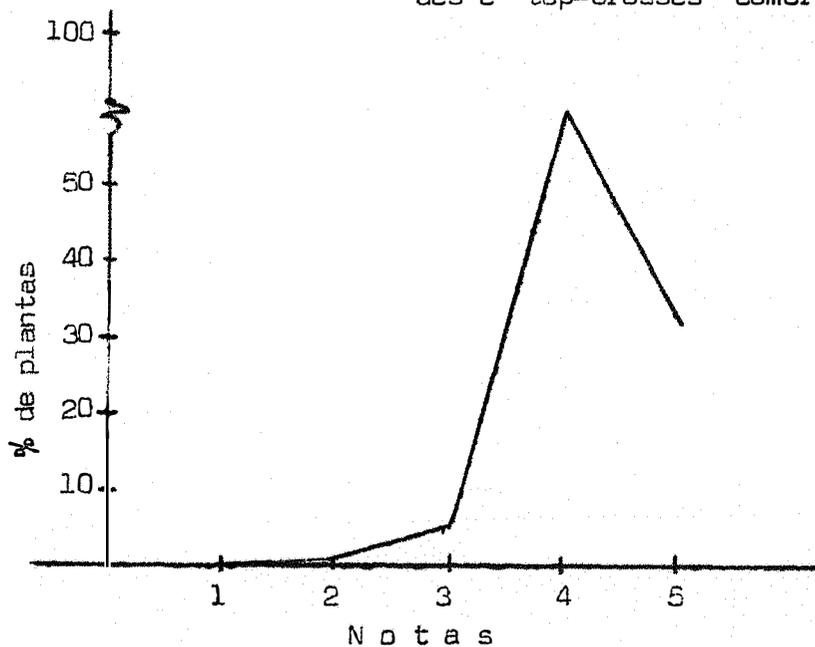


GRAFICO 2 - Médias das frequências das notas dentro de cada grupo, dadas em % de plantas, quando os cultivares foram inoculados com D. maydis.

GRUPO 1 - populações, híbridos de variedades e "top-crosses" comerciais.



GRUPO 2 - híbridos duplos.

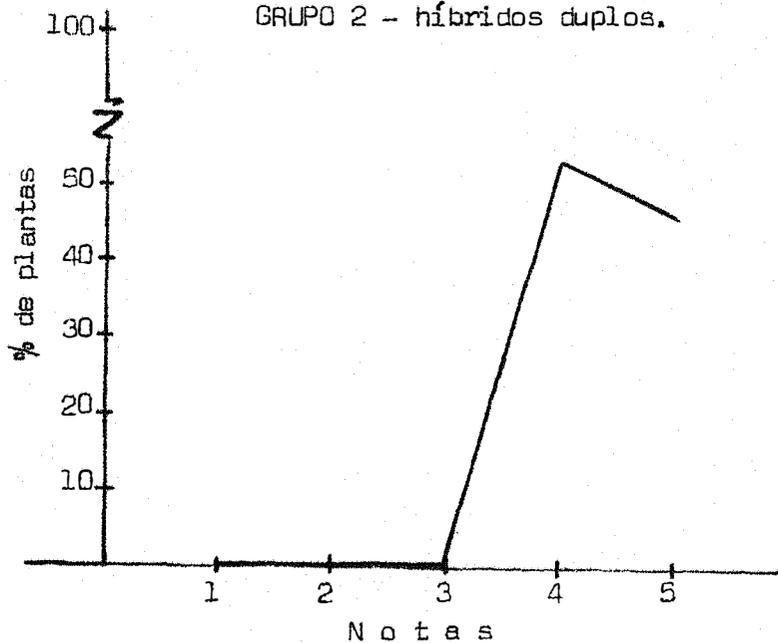


GRAFICO 3 - Médias das frequências das notas dentro de cada grupo, dadas em % de plantas, quando os cultivares foram inoculados com F. moniliforme e D. maydis, simultaneamente.

## 10. APÉNDICE

TABELA 1 - Efeito da época de avaliação dos sintomas sobre o desenvolvimento da sintomatologia interna, em colmos de milho inoculados com F. moniliforme e D. maydis e plantas testemunhas com fermento

Épocas de Avaliação	Cultivares	<u>Fusarium</u>				Sub-Total	<u>Diplodia</u>				Sub-Total	Testemunha com fermento				Sub-Total	Soma dos Sub-Totais
		I	II	III	IV		I	II	III	IV		I	II	III	IV		
1ª época	Agroceres 504	2,50*	3,00	2,70	2,70	10,90	3,89	3,60	3,11	3,38	13,98	1,59	1,50	1,71	2,05	6,85	31,73
	Opaco Amarelo	3,00	2,00	2,14	2,11	9,25	3,10	2,20	3,40	3,00	11,70	1,36	1,42	1,00	1,29	5,07	26,02
Sub-Total						20,15					25,68					11,92	57,75
2ª época	Agroceres 504	3,70	3,56	3,89	3,50	14,65	3,60	4,00	3,36	2,88	13,84	2,95	2,67	2,28	3,15	11,05	39,54
	Opaco Amarelo	2,86	3,75	3,25	2,86	12,72	3,30	3,86	2,50	3,67	13,33	1,35	1,88	2,50	2,27	8,00	34,05
Sub-Total						27,37					27,17					19,05	73,59
3ª época	Agroceres 504	2,86	3,67	3,44	4,25	14,22	2,88	5,11	3,45	4,00	13,48	2,83	3,22	3,00	3,21	12,26	39,92
	Opaco Amarelo	2,33	3,13	3,14	3,88	12,48	4,00	3,40	3,57	3,20	14,17	2,83	3,36	3,46	3,00	12,65	29,30
Sub-Total						26,70					27,61					24,29	79,22
T O T A L S						74,22					80,46					55,88	210,56

\* Média das leituras dos sintomas internos, por parcela.

TABELA 2 - Resultados relativos à avaliação dos sintomas internos apresentados pelos colmos de 25 cultivares de milho, aos diferentes tipos de inoculação

Cultivares	Tipos de inoculação	Repetições				Total
		I	II	III	IV	
Dentado Composto C-MI	<u>Fusarium</u>	3,14*	2,00	2,33	3,00	10,47
	<u>Diplodia</u>	3,90	4,00	4,00	3,50	15,40
	<u>Diplodia + Fusarium</u>	4,08	3,00	3,50	2,60	13,18
ESALQ HV 1 MII	<u>Fusarium</u>	3,23	2,08	2,55	2,30	10,16
	<u>Diplodia</u>	4,31	4,00	4,05	4,11	16,47
	<u>Diplodia + Fusarium</u>	4,28	4,28	3,92	3,94	16,42
Grãos de Ouro 07	<u>Fusarium</u>	3,13	1,81	2,50	3,50	10,94
	<u>Diplodia</u>	4,00	4,29	4,31	4,16	16,76
	<u>Diplodia + Fusarium</u>	4,00	4,08	4,37	4,23	16,68
IAC HV 2	<u>Fusarium</u>	3,15	2,25	2,72	3,64	11,76
	<u>Diplodia</u>	4,18	3,93	4,17	4,21	16,49
	<u>Diplodia + Fusarium</u>	4,10	4,16	4,31	4,11	16,68
Centralmex HS 4 MII	<u>Fusarium</u>	3,38	2,18	2,95	2,53	11,04
	<u>Diplodia</u>	4,58	4,12	4,15	4,21	17,06
	<u>Diplodia + Fusarium</u>	4,25	3,85	4,37	4,30	16,77
IPEACO HV 53	<u>Fusarium</u>	2,88	2,35	2,93	2,92	11,08
	<u>Diplodia</u>	4,21	3,94	4,43	3,92	16,50
	<u>Diplodia + Fusarium</u>	4,25	4,26	4,50	4,38	17,39
IAC HV 37	<u>Fusarium</u>	2,86	2,27	3,05	2,81	10,99
	<u>Diplodia</u>	4,11	4,27	4,00	4,40	16,78
	<u>Diplodia + Fusarium</u>	4,55	4,18	4,42	4,57	17,72
Grãos de Ouro 05	<u>Fusarium</u>	3,23	2,41	2,89	3,10	11,63
	<u>Diplodia</u>	4,33	4,00	4,50	4,15	16,98
	<u>Diplodia + Fusarium</u>	4,00	4,37	4,42	4,27	17,06
Flint Composto C-MI	<u>Fusarium</u>	3,09	1,33	3,08	3,50	11,00
	<u>Diplodia</u>	4,52	4,35	4,54	4,00	17,41
	<u>Diplodia + Fusarium</u>	4,52	4,45	4,38	4,29	17,64
Grãos de Ouro 06	<u>Fusarium</u>	2,94	2,46	3,33	2,93	11,66
	<u>Diplodia</u>	4,55	4,25	4,28	4,08	17,16
	<u>Diplodia + Fusarium</u>	4,47	4,41	4,18	4,22	17,28

\* Média das leituras dos sintomas internos, por parcela

TABELA 2 (continuação)

Cultivares	Tipos de i- noculação	Repetições				Total
		I	II	III	IV	
Azteca Prolífico VIII	<u>Fusarium</u>	3,81	2,57	2,55	4,42	13,35
	<u>Diplodia</u>	4,42	4,14	3,93	3,84	16,33
	<u>Diplodia</u> + <u>Fusarium</u>	4,38	4,22	4,00	4,30	16,90
IAC Phoenix 98	<u>Fusarium</u>	3,41	2,40	2,75	4,04	12,60
	<u>Diplodia</u>	4,83	4,45	4,42	4,25	17,95
	<u>Diplodia</u> + <u>Fusarium</u>	4,30	4,25	4,35	3,73	16,55
IAC HV 310	<u>Fusarium</u>	3,38	3,09	3,76	3,31	13,54
	<u>Diplodia</u>	4,38	4,61	4,70	4,58	18,27
	<u>Diplodia</u> + <u>Fusarium</u>	4,40	4,38	4,50	4,31	17,59
IAC Hmd 7974	<u>Fusarium</u>	2,95	2,40	3,55	2,27	11,17
	<u>Diplodia</u>	4,08	4,22	4,60	4,63	17,53
	<u>Diplodia</u> + <u>Fusarium</u>	4,50	4,22	4,47	4,33	17,52
Grãos de Ouro 02	<u>Fusarium</u>	3,31	3,61	2,68	3,09	12,69
	<u>Diplodia</u>	4,05	4,38	4,15	4,66	17,24
	<u>Diplodia</u> + <u>Fusarium</u>	4,35	4,37	4,31	4,09	17,12
Agrocerec 152	<u>Fusarium</u>	3,65	2,25	2,78	3,77	12,45
	<u>Diplodia</u>	4,63	4,71	4,50	4,33	18,17
	<u>Diplodia</u> + <u>Fusarium</u>	4,60	4,36	4,66	4,33	17,95
SAVE 231	<u>Fusarium</u>	3,20	3,00	3,35	4,00	13,55
	<u>Diplodia</u>	4,30	4,20	4,47	4,65	17,62
	<u>Diplodia</u> + <u>Fusarium</u>	4,41	4,55	4,04	4,52	17,52
IAC Hmd 6999 B	<u>Fusarium</u>	4,11	2,46	3,70	3,05	13,32
	<u>Diplodia</u>	4,38	4,31	4,55	4,81	18,05
	<u>Diplodia</u> + <u>Fusarium</u>	4,46	4,26	4,61	4,00	17,33
Agrocerec 256	<u>Fusarium</u>	3,66	3,11	2,93	4,26	13,96
	<u>Diplodia</u>	4,35	4,63	4,31	4,65	17,94
	<u>Diplodia</u> + <u>Fusarium</u>	4,21	4,76	4,50	4,27	17,74
Agrocerec 257	<u>Fusarium</u>	3,09	3,55	3,31	4,00	13,95
	<u>Diplodia</u>	4,66	4,52	4,36	4,33	17,87
	<u>Diplodia</u> + <u>Fusarium</u>	4,63	4,44	4,65	4,54	18,26
Agrocerec 152/5	<u>Fusarium</u>	4,13	3,93	3,75	3,05	14,86
	<u>Diplodia</u>	4,73	4,50	4,50	4,35	18,08
	<u>Diplodia</u> + <u>Fusarium</u>	5,00	4,45	4,57	4,38	18,40

TABELA 2 (continuação)

Cultivares	Tipos de i- noculação	Repetições				Total
		I	II	III	IV	
Cargill 5005	<u>Fusarium</u>	3,00	2,17	2,42	3,65	11,24
	<u>Diplodia</u>	4,23	4,23	4,28	4,34	17,08
	<u>Diplodia + Fusarium</u>	4,52	4,29	4,36	4,30	17,47
Cargill 111-A	<u>Fusarium</u>	3,62	3,00	3,20	3,35	13,17
	<u>Diplodia</u>	4,33	4,62	4,00	4,11	17,06
	<u>Diplodia + Fusarium</u>	4,48	4,27	4,00	4,50	17,25
Cargill 300	<u>Fusarium</u>	3,40	2,43	2,95	3,70	12,48
	<u>Diplodia</u>	4,38	4,00	4,50	4,72	17,60
	<u>Diplodia + Fusarium</u>	4,30	4,23	4,25	4,76	17,54
Cargill 111	<u>Fusarium</u>	3,00	2,96	3,56	3,35	12,87
	<u>Diplodia</u>	4,57	4,36	4,40	4,18	17,51
	<u>Diplodia + Fusarium</u>	4,82	4,44	4,36	4,35	17,97