

OSVALDO PARADELA FILHO  
ENGENHEIRO AGRONOMO  
SEÇÃO DE MICROBIOLOGIA FITOTÉCNICA  
INSTITUTO AGRONOMICO - CAMPINAS

AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO DE POPULAÇÕES  
DE MILHO (Zea mays L.) INOCULADAS ARTIFICIALMENTE  
COM OS AGENTES DAS PODRIDÕES  
DO COLMO E DA ESPIGA

TESE APRESENTADA À ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA  
LUIZ DE QUEIROZ" DA U.S.P., PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE  
"MAGISTER SCIENTIAE"

PIRACIGABA, SP - BRASIL  
1972

OSVALDO PARADELA FILHO  
ENGENHEIRO AGRONOMO  
SEÇÃO DE MICROBIOLOGIA FITOTÉCNICA  
INSTITUTO AGRONOMICO - CAMPINAS

AVALIAÇÃO DO COMPORTAMENTO DE POPULAÇÕES  
DE MILHO (Zea mays L.) INOCULADAS ARTIFICIALMENTE  
COM OS AGENTES DAS PODRIDÕES  
DO COLMO E DA ESPIGA

TESE APRESENTADA À ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA  
"LUIZ DE QUEIROZ" DA U.S.P., PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE  
"MAGISTER SCIENTIAE"

Orientador : Dr. HIROSHI KIMATI

BIBLIOTECA  
Escola Superior de  
Agricultura  
"Luiz de Queiroz"

PIRACICABA, SP - BRASIL  
1972

AOS MEUS PAIS

ÀS MINHAS IRMÃS

E

À MINHA ESPÔSA

D E D I C O

## AGRADECIMENTOS

À Coordenadoria do Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos concedida durante a realização do curso.

Ao Conselho Nacional de Pesquisas (CNPq), pela bolsa de Pesquisador Assistente concedida (Proc. nº 10439/71).

Ao Engº.Agrº. Heli Camargo Mendes, pelo incentivo, apoio e estímulo recebidos durante a realização do curso e pela revisão do texto.

Ao Dr. Hiroshi Kimati, pela orientação, revisão dos originais e sugestões recebidas.

Ao Dr. William José da Silva, pela valiosa colaboração prestada, sem a qual não teria sido possível a realização deste trabalho, e pela revisão dos originais.

Ao Dr. Eric Balmer, pela revisão dos originais e sugestões apresentadas.

Aos Eng<sup>os</sup>. Agr<sup>os</sup>. Ivan José Antunes Ribeiro e Jaciro Soave, pelo incentivo e auxílio prestados.

Aos Eng<sup>os</sup>. Agr<sup>os</sup>. José A. Usberti Filho, Sérgio Almeida de Moraes e Mauro Hideo Sugimori, pelo auxílio nas inoculações e leituras dos sistemas.

Ao Eng<sup>o</sup>.Agr<sup>o</sup>. Toshio Igue, pelo auxílio nas análises estatísticas.

Aos técnicos de laboratório Luiz Eduardo de Figueiredo, Rogério Rodrigues, Sra. Luzia R. Vivaldi Barbosa e -  
Srta. Margarida F. Otta, pelo auxílio nos trabalhos de laboratório e de campo e à Srta. Maria Wilma Vianna, pela tabulação dos dados.

Ao acadêmico Henrique Mazottini, pelo auxílio nas inoculações.

A todos que, direta ou indiretamente colaboraram -  
para a realização deste trabalho.

# I N D I C E

	<u>Página</u>
1. INTRODUÇÃO -----	1
2. REVISÃO DA LITERATURA -----	4
3. MATERIAIS E MÉTODOS -----	11
3.1. Meios de cultura -----	11
3.2. Isolamento dos microrganismos -----	11
3.3. Culturas de microrganismos utilizadas -----	11
3.4. Germoplasma utilizado -----	12
3.5. Condução dos experimentos -----	15
3.5.1. Experimento nº 1: Inoculação em col- mos de plantas polinizadoras -----	17
3.5.2. Experimento nº 2: Inoculação em espi- gas de plantas polinizadoras -----	17
3.5.3. Experimento nº 3: Inoculação em col- mos de plantas emasculadas -----	18
3.5.4. Experimento nº 4: Inoculação em col- mos de plantas das variedades nas quais estão sendo introduzidos os fa- tores genéticos "opaque-2", "floury-2" e "liguliless-1" -----	18
3.6. Preparo do inóculo -----	18
3.6.1. De <u>Fusarium moniliforme</u> -----	18
3.6.2. De <u>Diplodia zeae</u> -----	19
3.7. Técnica de inoculação -----	19
3.8. Local e Época de inoculação -----	20
3.9. Época de Avaliação dos Sintomas -----	20
3.10. Critério de Avaliação dos Sintomas -----	20
4. RESULTADOS -----	22
4.1. Primeiro Experimento de Inoculação -----	22

	<u>Página</u>
4.2. Segundo Experimento de Inoculação -----	22
4.3. Terceiro Experimento de Inoculação -----	26
4.4. Quarto Experimento de Inoculação -----	29
5. DISCUSSÃO -----	31
6. CONCLUSÕES -----	36
7. RESUMO -----	38
8. SUMMARY -----	40
9. BIBLIOGRAFIA CITADA -----	42

\*  
\*  
\*  
\*

## 1. INTRODUÇÃO

Embora o milho seja uma das plantas mais estudadas no País, pouco se tem feito no setor de melhoramento visando incorporar resistência aos agentes de moléstias no germoplasma de variedades comerciais.

A produtividade de um cultivar é uma variável que depende do potencial genético do material e dos fatores do ambiente que permitem a manifestação do efeito dos genes capitalizados no programa de melhoramento. O potencial genético praticamente estabelece o nível de produtividade de uma dada variedade.

O modelo genético para produtividade considera, além dos componentes da produção, a resistência das plantas aos agentes de moléstias e às pragas, resistência à seca, maior capacidade fotossintética, qualidade do produto, etc.

Entre as moléstias que ocorrem endemicamente no Estado de São Paulo, causando podridões do colmo e das espigas, podemos destacar duas principais que têm como agentes Diplodia zeae (Schw) Lévl. e Fusarium moniliforme Sheldon.

Apesar da ausência no País, de trabalhos científicos de avaliação de danos causados por esses fungos nas culturas de milho, a literatura estrangeira revela perdas de até 18% na produção de grãos.

Nas espigas os danos causados são menores, todavia sementes fortemente infestadas quando germinam dão origem a plantas muito fracas. Sementes levemente infestadas originam plantas que, se não forem afetadas no colmo, terão seu crescimento normal retardado.

Considerando que colmos suscetíveis a esses fungos apresentam, em nossas condições, índices de quebramento que oscilam de 20 a 30%, segundo os dados obtidos por Silva (1) os prejuízos não só oneram a operação de colheita, como também reduzem diretamente a produção de grãos por degeneração precoce da medula do caule, onde está inserido o sistema vascular.

Estudos recentes efetuados pela Seção de Genética do IAC, envolvendo a avaliação de características de plantas de cultivares de milho em dois níveis de densidade de plantio, indicam a importância da qualidade do colmo, quando alta produção de grão é almejada (1). Os dados médios de quatro populações de milho avaliadas em cinco localidades do Estado de São Paulo em 1971/72, com relação à porcentagem de quebramento, para as densidades de plantio de 42.000 plantas por ha, e 84.000 plantas por ha, mostraram que essa porcentagem praticamente dobra, passando de 16,4 para 29,4%, quando se duplica o número de plantas por área.

O mesmo estudo revelou que a porcentagem de espigas apodrecidas aumentou 26%, quando o número de plantas por área foi duplicado.

Na cultura do milho a colheita é uma das operações que mais oneram o custo de produção, representando, aproximadamente, 14% dos gastos diretos (1). Com a intensificação do uso de colhedoras mecânicas fabricadas no País, e com a tendência inevitável do aumento da densidade de plantio para maximizar a produtividade, há necessidade premente de aumentar a frequência de plantas erectas, através de seleção, para dimi

---

(1) SILVA, W.J. Campinas, Instituto Agronômico, 1972 (Comunicação verbal).

nuição do custo de produção do cereal. Frequentemente a eficiência da colhedeira é diminuída pela impossibilidade mecânica da colheita de plantas quebradas ou acamadas, exigindo complementação com a colheita manual.

A incorporação ou elevação da frequência de genes favoráveis em nossos cultivares, através de um programa de melhoramento, visando resistência do colmo às principais moléstias prevalentes, traria vantagens sem qualquer ônus para o agricultor, uma vez que o uso de defensivos é antieconômico, com o nível de rendimento atual da cultura.

O presente trabalho sobre o estudo da variabilidade genética disponível em populações de milho, com relação às respostas aos fungos D.zeae e F.moniliforme, constitui parte do programa de melhoramento da Seção de Genética do Instituto Agrônomo do Estado de São Paulo, que envolve a seleção recorrente de nove populações de milho, com potencial produtivo superior, visando à concentração de genes para produção de grãos, para prolificidade, resistência a pragas e agentes de moléstias, arquitetura da planta mais desejável e melhoria da qualidade protéica do milho.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

DURREL (3), empregando uma técnica mecânica mostrou que a resistência ao quebramento foi reduzida à metade em colmos infectados por fungos. Atribuiu o enfraquecimento do colmo à assimilação de celulose e pequenas quantidades de lignina pelos fungos causadores das podridões do colmo.

IVANOFF (6), devido à necessidade de uma técnica rápida, uniforme e eficiente para inocular suspensão bacteriana em colmos de milho, desenvolveu um inoculador de plantas, que consta de um tubo reservatório de inóculo, com uma agulha na ponta, apresentando furo lateral e uma válvula para entrada de ar. Para mostrar a eficiência do inoculador cita que quatro homens fazendo dois furos por planta inocularam, em 4 dias, mais de 100.000 plantas.

SMITH & TROST (19), trabalhando com milho doce e milho dentado, usaram inoculação natural para avaliar podridão de espiga causada por Diplodia zeae. A avaliação foi baseada em espigas com e sem sintomas de podridão.

SMITH et al. (20) mostraram que a avaliação para quebramento de colmo está correlacionada com a avaliação para podridão de colmo. O coeficiente de correlação encontrado foi +0,821.

YOUNG (25) descreveu um método simples para inoculação de fungos causadores de podridão no colmo e espiga de milho. É baseado na preparação do inóculo sobre palitos de dente, em meio líquido de batata-dextrose. Os palitos com as frutificações dos fungos, são inseridos diretamente em colmos jovens e

espigas. Para a utilização desta técnica em colmos velhos , há necessidade de se fazer, antes, um furo no colmo, com um estilete de metal. O método apresenta quatro vantagens: - a) diferentes seções do colmo ou espiga podem ser inoculadas ao mesmo tempo com o mesmo fungo ou fungos diferentes; b) o ponto de inoculação é detectado facilmente; c) a disseminação do patógeno é facilmente delineada; d) grandes populações podem ser inoculadas rapidamente.

ULLSTRUP (21) inoculou suspensões de esporos de D. zea em espigas de milho. O inóculo foi produzido em sementes de aveia e a inoculação foi realizada por pulverização, com o auxílio de um compressor. Testou três critérios de avaliação de sintomas: porcentagem de espigas com sintomas de podridão, peso de sementes com sintomas e índices de doença. Concluiu que o resultado obtido pelos três métodos se equivalem. Recomenda o método baseado na porcentagem de espigas com sintomas.

MICHAELSON & CHRISTENSEN (12), trabalhando com duas variedades de milho que foram inoculadas com D. zea e G. zea pela técnica do palito de dente, em diversas partes da planta, concluíram que a redução na produção varia com a variedade de milho, com o patógeno, com o número de pontos de infecção por colmo e com a estação do ano.

WILLIAMS & MENON (23) compararam quatro técnicas de inoculação de fungos causadores de podridão do colmo: palito de dente, barbante infestado, vasador e seringa hipodérmica. Trabalhando em condições de campo, usando um critério de avaliação semelhante ao usado por SCHEIFELE (18) e realizando a avaliação de 12 a 14 dias após a inoculação, concluíram que

todos os métodos de inoculação produzem suficiente podridão para comparação de resistência entre híbridos de milho. Salientam a técnica do vasador, pela sua aplicação em larga escala em trabalhos de campo, pela facilidade de preparação de inóculo e pela rapidez de inoculação. Para a realização do trabalho utilizaram culturas de Fusarium roseum, f. cerealis e Diplodia zeae, cultivados em meio de glucose-extrato de levedura-fosfato de potássio e ágar.

DEVAY et al. (2) realizaram inoculações de vários patógenos em diversas linhagens e híbridos de milho, com o objetivo de obter informações sobre resistência, que pudessem ser úteis aos melhoristas de milho. Para as podridões do colmo e espiga, a técnica de inoculação empregada foi a do palito de dente, sendo a avaliação dos sintomas realizada de duas a quatro semanas após a inoculação. A escala de avaliação é baseada em porcentagem de área apodrecida de colmo e espiga sendo considerado resistente até 25%, de 26 a 50% moderadamente resistente, de 51 a 75% moderadamente suscetível e de 76 a 100% suscetível.

FOLEY & WERNHAM (4), para estudarem o efeito de fertilizantes na podridão do colmo do milho, inocularam uma mistura de Diplodia zeae, Gibberella zeae e Pythium spp. Para avaliar a severidade da podridão, usaram três critérios: extensão da podridão, quebramento do colmo e morte prematura da planta.

MICHAELSON (11), estudando os fatores que afetam o desenvolvimento da podridão do colmo causada por D.zeae e G. zeae, usou nas inoculações a técnica do palito de dente com culturas de duas semanas. Comparou o efeito da inoculação -

das culturas isoladas e misturadas. Usando um critério de avaliação baseado na porcentagem de área apodrecida concluiu que não existe diferença na severidade dos sintomas quando os fungos são inoculados separados ou misturados. Relata também que as podridões de colmo variam de acordo com a variedade de milho, com o patógeno, com o número de infecções, com a localização da infecção e com o ano agrícola.

ZUBER et al. (26) mostraram que a suscetibilidade do colmo de milho ao acamamento está positivamente associada com a quantidade de minerais, celulose, potássio e sílica, mas não está associada com a suscetibilidade a Diplodia zeae e Gibberella zeae.

HOOKER (5) relata que a podridão do colmo causada por Diplodia zeae é mais severa quando inoculada nos internódios mais altos, do que no 1º, 2º ou 3º internódio acima do nível do solo. Indica que o melhor procedimento em relação à resistência em colmo é inoculando o 1º ou 2º internódio plenamente desenvolvido, acima da superfície do solo, durante o período de fecundação e avaliar a severidade da doença de três a quatro semanas após a inoculação.

KOEHLER (7) em seu trabalho sobre podridão de espiga, produziu esporos dos fungos em sementes de aveia e usou para inoculação o processo de pulverização dos estilo estigmas. Discute em seu trabalho algumas técnicas de inoculação como: inoculação em estiloestigma, inoculação na ponta da espiga, inoculação na axila da folha da espiga e inoculação no colmo abaixo da inserção da espiga. Cita dois critérios de avaliação de sintomas: espiga apodrecida e sementes com sintomas da moléstia.

KOEHLER (8) discute, em seu trabalho sobre podridão do colmo, cinco métodos de avaliação de podridão de colmo de milho. São eles: morte prematura da planta, quebramento do colmo, rigidez do colmo, descoloração interna e externa da superfície do colmo. Discute, também, em comparação com dados obtidos na literatura, outros aspectos como: idade das culturas para inoculação, época de inoculação, local de inoculação, época de avaliação de sintomas, etc.

LOESCH et al. (10), investigando a influência da podridão do colmo causada por Diplodia maydis, na grossura da medula e na resistência ao esmagamento, encontraram diferenças significativas em níveis de produção, entre plantas suscetíveis e resistentes ao acamamento.

BOOTHROYD (1), trabalhando com três híbridos comerciais resistentes e um híbrido suscetível à podridão do colmo em condições de campo, mostrou que na época da colheita os híbridos resistentes apresentavam porcentagens de podridão de 7, 11 e 7% respectivamente, enquanto que o híbrido suscetível apresentava 52% de podridão.

WILCOXSON (23), trabalhando com Diplodia zeae e Fusarium graminearum, inoculou diversos híbridos comerciais no colmo. Usou a técnica de inoculação do palito de dente descrita por YOUNG (26), e a avaliação de sintomas foi realizada na época da colheita, baseada em porcentagem de áreas apodrecidas, segundo DEVAY (2). Em três anos de estudo concluiu que as perdas foram reduzidas em 17% e que os híbridos afetados aparentemente não diferem na sua capacidade de produção. Concluiu também que, de um modo geral, as perdas eram mais severas quando a podridão iniciava de 9 a 10 semanas antes da

colheita, do que quando começava de 5 a 6 semanas.

Segundo a citação de WILCOXSON (22), HOOKER & BRITTON encontraram produções de 18% a mais em plantas aparentemente sadias comparadas com plantas com sintomas de podridão no colmo. Encontraram também diferença de 27% em produção comparando plantas com podridão no colmo e plantas acamadas.

KUCHAREK e KOMMEDAHL (9) inocularam plantas de milho com suspensão de esporos de F.moniliforme em condições de estufa, com auxílio de seringa hipodérmica, para estudar as alterações histológicas no colmo do milho afetado.

MORTIMORE & WALL (13), trabalhando em condições de inoculação natural, mostraram que, quando se aumenta o número de plantas por área, eleva-se o número de podridões de colmo. - Mostraram também que plantas que são afetadas logo após a maturação fisiológica dão menores produções que aquelas que são afetadas mais tarde.

SCHEIFELE (18) testou dois métodos para produção de inóculo de Gibberella roseum. Um deles foi cultivar o fungo durante 14 dias em sementes de centeio cozidas. Este método produziu grande quantidade de micélio. O outro método foi cultivar o fungo durante 14 dias em batata dextrose-ágar, para obter abundante quantidade de esporos.

Para avaliação dos sintomas usou uma escala de notas de 1 a 5, sendo 1 quando menos de 25% do internódio inoculado estava necrosado, 2 de 26 a 50%, 3 de 51 a 75%, 4 de 76 a 100% e 5 plantas com necrose nos internódios. A avaliação foi feita 7 semanas após a inoculação. Concluiu que o inócu

lo na forma de esporos é significativamente mais efetivo que na forma de micélio, para produzir podridão em colmo de milho.

WYSONG & HOOKER (24), para inocular colmos de milho, produziram esporos de Diplodia maydis em sementes de sorgo autoclavadas. Determinaram que o tecido senescente é incapaz de resistir à invasão ou colonização por fungos causadores de podridão de colmo.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado nos laboratórios da Seção de Microbiologia Fitotécnica e no Centro Experimental de Campinas, do Instituto Agrônomo do Estado de São Paulo, nos anos de 1971 e 1972.

#### 3.1. Meios de cultura

Os meios de cultura utilizados foram: B.D.A. (batata-dextrose-ágar) preparado segundo RIKER & RIKER (16), e meio de sementes de sorgo (100 ml de sementes de sorgo e 100 ml de água, em garrafas de leite de 1 litro), esterilizado durante 20 minutos a 120°C.

#### 3.2. Isolamento dos Microrganismos

Para obtenção das culturas dos fungos que foram empregados neste trabalho, utilizou-se a seguinte técnica: sementes foram retiradas de espigas de milho apresentando sintomas de podridão e desinfestadas em bicloreto de mercurio a 1:1000, durante 1 minuto. Após desinfestação as sementes foram lavadas com água estéril e colocadas em placas de Petri contendo o meio de cultura BDA e deixadas em estufas incubadoras a 27°C. Desenvolvidas as colônias elas foram repicadas para tubos de ensaio contendo o mesmo meio de cultura e mantidas através de repicagens sucessivas até sua utilização para produção de inóculo.

#### 3.3. Culturas de microrganismos utilizadas

Seguindo a técnica descrita no item 3.2., foram obti-

das seis culturas de fungos de três localidades diferentes: - Campinas e Ataliba Leonel, no Estado de São Paulo, e Santo Augusto, no Rio Grande do Sul.

Das seis culturas de fungos obtidas, cinco pertenciam à espécie Fusarium moniliforme Sheldon e uma à espécie Diplodia zeae (Schw.) Lév.

#### 3.4. Germoplasma utilizado

As populações de milho inoculadas são cultivares adaptados às condições do Estado de São Paulo e região central do País. A maior parte do germoplasma é de origem recente, apresentando-se na forma de variedades sintéticas de alta produção e capacidade de combinação conhecida.

Uma descrição sumária de cada população é dada a seguir, segundo OSUNA (14), RUSCHEL (17) e SILVA (comunicação pessoal).

Cateto Prolífico: Variedade melhorada na Seção de Genética do IAC, para aumento do número de espigas por colmo a partir de germoplasma Cateto. Apresenta sementes de endosperma duro, de aparência cristalina e coloração amarelo-laranja.

Asteca Prolífico: Cultivar que vem sendo selecionado na Seção de Genética do IAC, para maior prolificidade e produtividade. A variedade sintética Asteca foi produzida no Instituto Agrônomo de Campinas pela Seção de Cereais, a partir de linhagens de origem mexicana. As espigas são de porte médio, com sabugo de diâmetro reduzido e sementes dentadas profundas, de endosperma amarelo.

WP-12: População sintetizada na Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" de Piracicaba, com sementes do tipo semi-dentado de coloração amarela e branca, constituída de uma mistura das melhores coleções varietais de milhos tuxpeños e cristalinos. Apresenta maior precocidade que os cultivares adaptados às nossas condições.

MEB: Sintético do tipo dentado de coloração amarela, de menor porte e maior precocidade produzido pela Seção de Genética do IAC, a partir de linhagens elite recuperadas, de pequeno porte. Essas linhagens com menor número de internódios foram obtidas através de um programa de retrocruzamento, onde os pais não recorrentes eram linhagens americanas do - 'Cornbelt'.

Mútiplos: Sintético obtido na Seção de Genética do IAC, a partir de híbridos duplos experimentais desta instituiçãõ e híbridos duplos comerciais de companhias particulares, em distribuição no ano de 1962. Apresenta endosperma do tipo semi-dentado e coloração amarelo-laranja.

SRR duro: Sintético obtido na Seção de Genética do IAC, a partir de germoplasma originário das Antilhas, da Colômbia, do Perú e de algumas linhagens do tipo 'flint', de alta capacidade de combinação com a variedade Asteca. Apresenta endosperma cristalino, de coloração amarela.

SRR dentado: Sintético obtido na Seção de Genética do IAC, a partir de variedades de origem mexicana, das Antilhas e de linhas puras do IAC que apresentam alta capacidade de combinação com a variedade Cateto. Apresenta endosperma do tipo dentado e coloração amarela.

Composto Duro ou Composto 'Flint': Sintético produzido pela Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, com germoplasma originário da América Central, principalmente de Cuba, Colômbia e Brasil. Apresenta endosperma do tipo cristalino, com coloração amarela e branca.

Composto dentado: Sintético produzido pela Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", de Piracicaba, formado a partir de variedades sintéticas de milho originárias do México, América Central e América do Sul. O endosperma apresenta tipo dentado com sementes segregando para coloração amarela e branca.

WP-9: População com sementes brancas e de aparência dentada, formada por cruzamento de diversas variedades de milho da raça Tuxpeño com o cultivar Eto blanco.

Piramex: Sintético originário do México da combinação de 20 linhagens  $S_1$  do milho Tuxpeño amarelo. Uma amostra da população resultante foi introduzida em Piracicaba, em 1956, sendo posteriormente melhorada pela seleção entre e dentro de famílias de meio-irmãos.

Centralmex: Sintético resultante do cruzamento entre as variedades Piramex e América Central, sendo esta originada de 16 linhagens  $S_1$  obtidas em Piracicaba, de material centro-americano.

Maya: Variedade sintética dentada, com base em germoplasma mexicano de cor amarela criada pela Seção de Cereais do IAC.

IAC-1: Variedade sintética, meio dente, com base em germoplasma mexicano, de cor amarela, criada pela Seção de Cereais do Instituto Agrônomo.

Tuxpan Laposta: População de germoplasma Tuxpeño também denominado Composto Laposta, tendo sementes brancas do tipo dentado.

Barbados 3D(T): População do tipo duro, originária do cruzamento de Barbados 3D, de tipo flint amarelo com a variedade mexicana Tehua de longo ciclo e de endosperma branco.

Composto Uruguay-Argentina: Composto de endosperma flint amarelo-laranja, semelhante às variedades Cateto, porém de ciclo curto em nossa latitude.

Var. 1802: Cultivar do tipo doce, de origem cubana.

### 3.5. Condução dos Experimentos

O presente trabalho é parte do programa de melhoramento genético do milho que está sendo conduzido pela Seção de Genética do Instituto Agrônomo do Estado de São Paulo. Procurou-se utilizar os ensaios de progênies do tipo espiga por fileira modificado, visando dar uma maior objetividade à informação científica coletada. Assim o material de melhor comportamento após a avaliação do efeito das inoculações será selecionado e utilizado no programa recorrente de seleção.

Além das nove populações do programa de seleção intrapopulacional, foi utilizada no estudo uma coleção de variedades

des, nas quais estão sendo introduzidos os fatores genéticos "opaque-2", "floury-2" e "liguliless-1".

Para a realização deste trabalho foram feitos quatro experimentos. Os experimentos um, dois e três, foram realizados com as seguintes populações: MEB, Múltiplos, WP-12, Asteca Prolífico, SRR dentado, Composto dentado, Cateto Prolífico, Composto duro e SRR duro.

As populações Asteca Prolífico, Cateto Prolífico e SRR dentado eram constituídas de 182 progênies avaliadas em experimento do tipo lâtilice 13x13, parcialmente balanceado, com controle intercalar e uma repetição. As demais populações eram constituídas de 240 progênies avaliadas em lâtilice do tipo 15x15, com controle intercalar e uma repetição por localidade.

Os ensaios delineados em lâtilice foram plantados isoladamente na forma de campo de despendoamento, onde as parcelas experimentais, progênies emasculadas, receberam pólen de linhas masculinas distribuídas ao longo dos ensaios, na proporção de 4:1. As linhas masculinas se constituíam de uma mistura balanceada de sementes que deram origem às progênies femininas.

Cada progênie era plantada em uma linha de 5,8 m, sendo o espaçamento entre linhas de 1 (um) metro e entre plantas de 20 cm.

O quarto experimento foi realizado com as variedades nas quais estão sendo introduzidos os fatores genéticos "opaque-2", "floury-2" e "liguliless-1". Essas variedades são as seguintes: Composto Laposta, Piramex, Centralmex, Barbados

3D(T), Composto Uruguay-Argentina, Maya, WP-9, IAC-1 e variedade 1802.

Cada variedade apresentava um número variável de linhas de 10 metros de comprimento, plantadas no espaçamento de 1 metro entre linhas e 20 cm entre plantas.

Esta coleção de variedades apresentava um total de 468 linhas.

3.5.1. Experimento nº 1: Inoculação em colmos de plantas polinizadoras, na época da polinização.

As inoculações foram realizadas nos colmos de plantas polinizadoras de apenas um bloco incompleto de cada um dos nove ensaios de progênies.

Cada ensaio era constituído de dez repetições, envolvendo canteiros com número de plantas oscilando entre 25 a 30,

3.5.2. Experimento nº 2: Inoculação em espigas de plantas polinizadoras, na época do florescimento.

As inoculações foram realizadas em todas as espigas das plantas das linhas polinizadoras de um dos blocos de cada um dos nove ensaios de progênies. Para a análise estatística considerou-se como parcela experimental cada linha de plantas masculinas, de 5,8 m de comprimento.

Cada parcela foi repetida dez vezes em cada ensaio.

3.5.3. Experimento nº 3: Inoculação em colmos de plantas emasculadas na fase de polinização.

Para a realização deste experimento, foram inoculadas no colmo seis plantas de cada uma das progênes de cada um dos nove ensaios de progênes.

As populações Asteca prolífico, Cateto prolífico e SRR dentado eram constituídas de 182 progênes e as demais populações eram constituídas de 240 progênes.

3.5.4. Experimento nº 4: Inoculação em colmos de plantas das variedades nas quais estão sendo introduzidos os fatores genéticos "opaque-2", "floury-2" e "liguliless-1".

Nesta coleção de variedades que possuía um total de 468 linhas, foram inoculadas no colmo todas as plantas cruzadas ou autofecundadas.

### 3.6. Preparo do Inóculo

#### 3.6.1. De Fusarium moniliforme

As culturas do fungo eram repicadas para placas de Petri contendo meio de cultura BDA e deixadas em temperatura ambiente para incubação dos microrganismos. Após 7 a 10 dias, os esporos eram suspensos em água estéril, por raspagem da superfície do meio de cultura, com auxílio de um escalpelo.

Para cada 4 litros de suspensão de esporos eram utilizadas 10 placas de cada um dos cinco isolados do fungo, resultando, aproximadamente,  $2,3 \times 10^7$  esporos por milímetro de suspensão.

### 3.6.2. De Diplodia zeae

A cultura do fungo era repicada para garrafas de leite contendo sementes de sorgo e deixadas à temperatura ambiente para incubação. Após 20 dias os esporos do fungo eram suspensos em água estéril, por agitação do meio de cultura com o auxílio de um bastão de vidro.

Os esporos produzidos em uma garrafa de leite permitiam preparar 3 litros de suspensão contendo aproximadamente  $1,8 \times 10^7$  esporos por milímetro.

Ambas as suspensões eram preparadas isoladamente e misturadas em partes iguais antes de cada inoculação, o que reduzia à metade o número de esporos por milímetro de suspensão.

### 3.7. Técnica de Inoculação

As inoculações em colmo foram realizadas segundo KOEHLER (8), por injeção, empregando-se um inoculador que constava de um tubo plástico de 50 centímetros de comprimento, por 3 centímetros de diâmetro, em forma de bengala e apresentando na ponta uma agulha metálica.

A agulha, com 3 centímetros de comprimento, possui um furo lateral, que permite a deposição do inóculo no interior da medula do colmo.

As espigas foram inoculadas empregando-se a técnica de pulverizações de suspensão de esporos, com o auxílio de um pulverizador costal manual.

### 3.8. Local e Época de Inoculação

As inoculações no colmo foram realizadas sempre no meio do segundo internódio a partir do nível do solo, ou seja o primerio internódio plenamente desenvolvido.

As espigas foram inoculadas pulverizando-se suspensão de esporos nos estigmas.

Tanto as inoculações em colmo como as inoculações em espigas foram realizadas na época do florescimento.

### 3.9. Época de Avaliação de Sintomas

Todas as avaliações de sintomas, em colmo e espigas foram realizadas após o secamento das plantas. Esta operação variou entre 76 e 86 dias após a inoculação. Para a população de milho MEB, que é mais precoce, a avaliação dos sintomas foi realizada aproximadamente 100 dias após a inoculação.

### 3.10. Critério de Avaliação dos Sintomas

A avaliação dos sintomas apresentados pelas plantas inoculadas no colmo foi baseada na coloração interna da medula e foi realizada enquadrando-as em duas classes: Resistentes (R) e Suscetíveis (S). As plantas cujos microrganismos inoculados colonizavam somente o internódio inoculado, sem todavia atingir os nós imediatamente superior e inferior, eram classificados em R. Quando a colonização realizada pelos fungos inoculados atingia o nó superior ou o inferior ao internódio inoculado, ou ainda os ultrapassava, as plantas eram clãssifi

çadas em S.

Para permitir a leitura dos sintomas, as plantas eram cortadas a uma altura de aproximadamente 50 centímetros do solo e, posteriormente, abertas ao meio, longitudinalmente.

Em espigas a avaliação foi realizada contando o número de espigas que apresentavam sintomas.

#### 4. RESULTADOS

4.1. Experimento 1: Inoculação em colmo de plantas polinizadoras.

No quadro 1 são apresentados os dados referentes às inoculações de plantas, não despendoadas das nove populações em estudo. Esses dados foram obtidos somando-se todas as repetições de cada população.

Pela incidência de plantas resistentes encontradas para as populações em estudo, pode-se constatar a baixa porcentagem de plantas resistentes, que existe nas populações, principalmente no Composto Dentado, Cateto prolífico, Composto duro e SRR dentado.

No quadro 2 são apresentados as médias e o desvio padrão, para as nove populações.

4.2. Experimento 2: -Inoculação em espiga de plantas polinizadoras.

O quadro 3 mostra o resultado da avaliação de espigas suscetíveis a F.moniliforme e D.zaeae, nas nove populações estudadas.

Esses dados foram obtidos somando-se as repetições de cada população.

Pela porcentagem de espigas suscetíveis encontrada, - com exceção da população MEB, podemos verificar que a porcentagem

Quadro 1. Porcentagem de plantas polinizadoras resistentes a F.moniliforme e D.zaeae, em nove populações de milho inoculadas no colmo, em condições de campo

POPULAÇÃO	TOTAL DE PLANTAS AVALIADAS	Nº DE PLANTAS RESISTENTES	% DE PLANTAS RESISTENTES
MEB	252	19	7,5
MÚLTIPLOS	225	26	11,6
WP-12	333	21	6,3
ASTECA PROLÍFICO	222	17	7,6
SRR DURO	243	26	10,7
COMPOSTO DENTADO	208	9	4,3
CATETO PROLÍFICO	227	2	0,8
COMPOSTO DURO	178	4	2,2
SRR DENTADO	197	3	1,5

Quadro 2. Médias de 10 repetições dos dados transformados em arc sen  $\sqrt{\text{porcentagem}}$  e desvios-padrões relativos a nove populações de milho cujas plantas polinizadoras foram inoculadas no colmo, em condições de campo

POPULAÇÃO	MÉDIA (°)	DESVIO-PADRÃO
MEB	15,86	8,22
MÚLTIPLOS	19,32	7,04
WP-12	14,42	3,07
ASTECA PROLÍFICO	15,43	4,97
SRR DURO	18,95	5,67
CATETO PROLÍFICO	7,32	2,35
COMPOSTO DURO	10,05	3,04
SRR DENTADO	8,72	3,89
COMPOSTO DENTADO	11,63	4,90

(°) As médias das populações foram calculadas baseadas nos dados das dez repetições, transformados em arc sen  $\sqrt{\text{porcentagem}}$ .

Quadro 3. Porcentagem de espigas de plantas polinizadoras, suscetíveis a F.moniliforme e D.zaeae, quando inoculadas por pulverização de suspensão de esporos, em condições de campo

POPULAÇÃO	Nº DE ESPIGAS AVALIADAS	Nº DE ESPIGAS SUSCETÍVEIS	% DE ESPIGAS SUSCETÍVEIS
MEB	216	172	79,6
MÚLTIPLOS	215	90	41,8
WP-12	301	111	36,8
ASTECA PROLÍFICO	245	134	54,6
SRR DURO	287	106	36,9
COMPOSTO DENTADO	291	187	64,2
CATETO PROLÍFICO	273	134	49,0
COMPOSTO DURO (')	256	127	49,0
SRR DENTADO (')	227	119	52,0

(') Populações não inoculadas artificialmente

tagem de espigas resistentes aos patógenos inoculados é bastante razoável. Embora as populações Composto duro e SRR dentado não tenham sido inoculadas artificialmente, as porcentagens de espiga suscetíveis encontradas para essas duas populações foram próximas àquelas encontradas para as populações inoculadas artificialmente, indicando a alta concentração de inóculo encontrada na fase de florescimento, em Campinas no ano de 1972.

No quadro 4 encontram-se as médias e os desvios-padrões, calculados para as nove populações testadas.

#### 4.3. Experimento 3: Inoculação em colmo de plantas emasculadas.

Como resultado deste experimento apresentamos as porcentagens de plantas resistentes encontradas em cada uma das populações inoculadas.

O quadro 5 mostra esses dados, onde o total de cada item foi obtido somando-se os resultados encontrados para cada uma das progênes dos ensaios descritos no item 3.5.

A incidência de plantas resistentes encontradas, dá uma idéia da baixa porcentagem de plantas resistentes nas progênes das populações em estudo.

Comparando-se os dados de porcentagem deste quadro, com os dados apresentados no quadro 1, podemos observar que, com exceção da população Cateto prolífico, cuja porcentagem de plantas resistentes passou de 0,8 para 1,0, todas as populações tiveram as porcentagens de plantas resistentes reduzidas.

Quadro 4. Médias de 10 repetições dos dados transformados em arc sen  $\sqrt{\text{porcentagem}}$  e desvios-padrões calculados para as nove populações de milho cujas plantas polinizadoras foram inoculadas na espiga

POPULAÇÃO	MÉDIA (°)	DESVIO-PADRÃO
MEB	67,26	17,93
MÚLTIPLOS	40,12	6,39
WP-12	38,76	6,28
ASTECA PROLÍFICO	47,82	4,83
SRR DURO	39,06	5,66
CATETO PROLÍFICO	43,96	4,40
COMPOSTO DURO	44,66	5,35
SRR DENTADO	46,75	7,29
COMPOSTO DENTADO	52,74	9,63

(°) As médias das populações foram calculadas baseadas nas dez repetições, cujos dados foram transformados em arc sen  $\sqrt{\text{porcentagem}}$

Quadro 5. Porcentagem de plantas femininas resistentes a F.moniliforme e D.zaeae encontrada em progênies de nove populações de milho inoculadas no colmo, em condições de campo

POPULAÇÃO	TOTAL DE PLANTAS AVALIADAS	Nº DE PLANTAS RESISTENTES	% DE PLANTAS RESISTENTES
MEB	1440	61	4,2
MÚLTIPLOS	1440	36	2,5
WP-12	1440	10	0,6
ASTECA PROLÍFICO	1092	14	1,2
SRR DURO	1440	22	1,5
COMPOSTO DENTADO	1440	24	1,6
CATETO PROLÍFICO	1092	11	1,0
COMPOSTO DURO	1440	24	1,6
SRR DENTADO	772	11	1,4

4.4. Experimento 4: Inoculação em colmos de plantas de variedades nas quais estão sendo introduzidos os fatores - "opaque-2", "floury-2" e "liguliless-1".

Conforme descrito no item 3.5., cada variedade apresenta um número variável de linhas. Todas as plantas autofecundadas ou cruzadas de cada variedade foram inoculadas.

Neste experimento foram anotados o número de plantas resistentes e quebradas, para cada variedade, e calculadas as respectivas porcentagens.

O quadro 6 apresenta as porcentagens de plantas resistentes e de plantas quebradas, para cada uma das vinte variedades estudadas.

O cálculo do coeficiente de correlação apresentou um  $r = - 0,57997$ , significativo ao nível de 1%.

Esta correlação negativa indica que quanto maior a porcentagem de plantas resistentes na variedade, menor será a porcentagem de quebramento. O coeficiente de determinação foi igual a 0,336.

Quadro 6. Porcentagens de resistência e de quebramento apresentadas pelas variedades de milho nas quais estão sendo introduzidos os fatores genéticos "opaque-2", "floury-2" e "liguliless-1", quando inoculadas no colmo com F.moniliforme e D.zaeae, em condições de campo

VARIEDADE	TOTAL DE PLANTAS	% DE RESISTÊNCIA	% DE QUEBRAMENTO
BC <sub>1</sub> Tuxpan laposta (o <sub>2</sub> )	144	7,6	4,8
BC <sub>1</sub> " " (lg <sub>1</sub> )	177	5,6	9,0
BC <sub>1</sub> " " (fl <sub>2</sub> )	135	6,6	3,7
BC <sub>1</sub> Píramex (o <sub>2</sub> )	195	1,5	14,5
BC <sub>1</sub> " (lg <sub>1</sub> )	180	1,1	9,4
BC <sub>1</sub> " (fl <sub>2</sub> )	156	1,2	15,3
BC <sub>1</sub> WP-9 (o <sub>2</sub> )	288	3,4	6,9
BC <sub>1</sub> " (fl <sub>2</sub> )	319	1,5	11,9
BC <sub>1</sub> Centralmex (o <sub>2</sub> )	220	0,9	28,1
F <sub>1</sub> Barbados 3D(T) (o <sub>2</sub> )	243	2,0	34,5
BC <sub>2</sub> Composto Uruguai-Argentina (o <sub>2</sub> )	74	0,0	32,4
BC <sub>1</sub> Composto Uruguai-Argentina (lg <sub>1</sub> )	59	0,0	25,4
F <sub>1</sub> Composto Uruguai-Argentina (fl <sub>2</sub> )	64	1,5	25,0
BC <sub>1</sub> Maya V (lg <sub>1</sub> )	228	3,0	9,2
BC <sub>1</sub> IAC-1 IV (lg <sub>1</sub> )	239	1,2	11,7
BC <sub>1</sub> Barbados 3D(T) (fl <sub>2</sub> )	192	0,5	42,7
BC <sub>1</sub> Barbados 3D(T) (lg <sub>1</sub> )	122	2,4	27,0
Maya opaco	124	0,8	10,4
Var.1802 opaco doce(o <sub>2</sub> , su <sub>1</sub> )	73	2,7	26,0
Var.1802 (doce cubano)	133	1,5	19,5

## 5. DISCUSSÃO

Na avaliação de linhagens ou populações de milho com relação à resistência a fungos causadores de podridão em colmos e espigas é essencial uma técnica de inoculação simples, rápida e segura. Essa técnica de inoculação é básica quando se quer estudar o potencial de variabilidade do patógeno, do hospedeiro ou a herança da resistência (SCHEIFELE, 18).

Várias são as técnicas de inoculação de colmo empregadas por diferentes autores (2, 6, 8, 9, 11, 12, 19, 21). Todas têm demonstrado eficiência dentro do objetivo de cada pesquisador, equivalendo-se entre si. Neste trabalho foi empregada a técnica de inoculação de colmo descrita por IVANOFF (6) e modificada por KOEHLER (8) por apresentar grande eficiência.

A baixa porcentagem de plantas resistentes, encontrada no experimento nº 1, aparentemente revela que existe nas populações em estudo uma baixa frequência de genes conferindo resistência a D.zaeae e F.moniliforme, indicando a necessidade de se concentrar esses genes favoráveis nas populações de milho comercial, visando melhoria de qualidade do colmo.

Pode-se dizer que os dados obtidos neste experimento foram subestimados, pois os resultados de WILCOXSON (22) mostraram que as perdas são mais severas quando a podridão se inicia de 9 a 10 semanas antes da colheita do que quando se inicia de 5 a 6 semanas.

Também WYSONG e HOOKER (24) determinaram que o tecido senescente é incapaz de resistir à invasão ou colonização por fungos causadores de podridão do colmo.

Como a avaliação da severidade da doença foi realizada com aproximadamente 11 semanas após a inoculação, era de se esperar uma redução posterior na porcentagem de plantas resistentes. Baseando ainda nos dados obtidos por WILCOXSON (22) e WYSONG e HOOKER (24), essa superestimativa é mais válida ainda para a população MEB, que além de ser precoce foi avaliada com aproximadamente 14 semanas da inoculação.

Embora os resultados obtidos demonstrem a existência de uma baixa frequência de genes para resistência no colmo, a porcentagem de plantas resistentes indica a viabilidade de um programa de seleção intrapopulacional para elevação da frequência gênica, principalmente nas populações MEB, Múltiplos, WP-12, Asteca prolífico, SRR duro e Composto dentado.

O emprêgo da seleção recorrente com inoculação de um grande número de indivíduos permitirá a concentração de fatores genéticos favoráveis em um curto espaço de tempo, pela eficiência do processo de seleção associado a frequente alta herdabilidade da característica considerada (PATERNIANI, 15).

Para o caso das populações Cateto prolífico, Composto duro e SRR dentado, que mostraram reduzida porcentagem de resistência, a seleção recorrente poderia ser usada num segundo estágio após a introdução de fatores genéticos para resistência aos patógenos em estudo nessas populações.

Vários são os critérios de avaliação de severidade de doença empregados por diferentes autores (2, 4, 7, 11, 14 e 18). Todavia, o critério mais empregado é aquele baseado na porcentagem de área apodrecida, ou seja: Resistente, até 25% da área apodrecida; Moderadamente Resistente, de 26 a 50%; Moderadamente suscetível, de 51 a 75%; e suscetível, de 76 a

100% da área apodrecida. Este critério tem-se demonstrado bastante eficiente, porém a avaliação deve ser realizada até 6 semanas após a inoculação. Para o caso do experimento nº 1, como havia interesse em selecionar sementes das plantas resistentes, a avaliação foi realizada na época da colheita, o que fez com que se idealizasse um critério próprio de avaliação de severidade bem mais rigoroso que os utilizados em regiões de clima temperado.

Para o experimento nº 3, também são válidos os comentários feitos para o experimento nº 1, com relação à baixa porcentagem de plantas resistentes encontrada. Nesse experimento a avaliação do efeito das inoculações no colmo de plantas despendoadas revelou uma sensível redução na porcentagem de resistência em relação a indivíduos não emasculados, indicando a necessidade da consideração do efeito do despendoamento na avaliação do grau de resistência das plantas em programa de seleção.

Para a realização das inoculações de espigas, constantes do experimento nº 2, utilizamos a técnica de pulverização de suspensão de esporos nos estiloestigmas, preconizada por ULLSTRUP (21). A técnica de inoculação de espigas com auxílio de palitos de dente, descrita por YOUNG (25), tem sido largamente empregada. Para o caso das populações em estudo, onde nada se conhecia a respeito do comportamento do material quanto à resistência a D.zeae e F.moniliforme, seria a técnica do palito de dente muito rigorosa quando aplicada na época do florescimento.

Com a sua utilização poder-se-ia correr o risco de não poder selecionar nenhum material e prejudicar a avaliação de

outras características consideradas no programa de melhoramento, pois, segundo KOEHLER (7), inoculações diretas com Diplodia na espiga sã podem ser realizadas de 30 a 40 dias após o florescimento, porque parece que as espigas jovens não apresentam resistência a esse fungo, não permitindo assim uma boa reação diferencial entre espigas resistentes e suscetíveis.

Pode-se dizer que a pulverização de esporos nos estilostigmas é uma técnica mais branda e se aproxima mais do que ocorre na natureza. Conforme cita KOEHLER (7), o método de aplicação da suspensão de esporos com um conta-gotas, diretamente sobre as sementes, na ponta da espiga, até 20 dias após o florescimento, acarreta um aumento considerável no número de sementes danificadas, quando comparado com a infecção natural. O mesmo autor cita que Smith e Madsen usaram o método de pulverização de suspensão de esporos em espiga, mas não dão a informação se houve aumento de infecção, quando esta técnica é comparada com a inoculação natural. SMITH e TROST (19) e MORTIMORE e WALL (13) consideraram em seus trabalhos apenas a inoculação natural. Pode-se verificar que as populações SRR dentado e Composto duro, que no experimento nº 2 foram inoculadas naturalmente apresentaram comportamento semelhante ao daquelas inoculadas artificialmente, indicando a existência de alta concentração de inóculo durante a fase de florescimento, nesse ano, em Campinas.

Os dados de inoculação em espigas, como era de se esperar, revelaram uma porcentagem de resistência bem maior do que aquelas encontradas para colmo, pois a seleção natural e a seleção praticada pelo homem devem atuar decisivamente na eliminação de espigas apodrecidas, causando uma maior redução na frequência de fatores genéticos desfavoráveis.

Conforme KOEHLER (7) a resistência na espiga não tem correlação com resistência no colmo.

Os dados obtidos no experimento nº 4 mostram em germo plasma diferente, também uma reduzida porcentagem de plantas com resistência a Diplodia e Fusarium no colmo. Essas variedades, quando avaliadas para o quebramento apresentam, em alguns casos, elevado número de plantas quebradas. Variedades que apresentam uma baixa porcentagem de plantas com resistência no colmo e alta porcentagem de quebramento, se forem cultivadas em densidades maiores que as freqüentemente usadas, como deverá ser a tendência futuramente, terão um rendimento menor, pois, segundo MORTIMORE e WALL (13), confirmados recentemente no programa de melhoramento de milho na Seção de Genética do IAC, quando se aumenta o número de plantas por área eleva-se também o número de plantas com podridão de colmo e da espiga e, conseqüentemente, o número de plantas quebradas.

SMITH et al. (20) encontraram correlação entre quebramento e podridão de colmo, ao passo que ZUBER et al. (26) não encontraram tal correlação.

Os dados de correlação obtidos no experimento nº 4, mostram que quanto maior a porcentagem de plantas resistentes existentes na variedade menor será a porcentagem de quebramento, evidenciando a eficiência do sistema de avaliação adotado.

## 6. CONCLUSÕES

Dos resultados obtidos podem-se tirar as seguintes con-  
clusões:

a) a incidência de plantas que apresentam resistência no colmo variou de 0,8 a 11,6%, quando plantas polinizadoras de nove populações foram inoculadas no colmo, em condições de campo. Como as populações cobrem uma ampla gama de germoplasma de grande potencial em área tropical, evidencia-se a grande necessidade de um programa de seleção para elevação da porcentagem de plantas resistentes nessas populações que servem de base para o programa de melhoramento em nossa região.

b) as populações que apresentaram melhor comportamento com relação à resistência no colmo foram: MEB, Múltiplos, WP-12, Asteca prolífico, SRR duro e Composto dentado.

c) as piores populações com relação à resistência no colmo foram: Cateto prolífico, SRR dentado e Composto duro.

d) a incidência de espigas suscetíveis variou de 36,8 a 79,6%, quando plantas polinizadoras de nove populações foram inoculadas por pulverização, em condições de campo.

e) as populações MEB e Composto dentado apresentaram as maiores porcentagens de espigas suscetíveis.

f) as populações que apresentaram as menores porcentagens de espigas suscetíveis foram: Múltiplos, WP-12, Asteca prolífico, SRR duro, Cateto prolífico, Composto duro e SRR - dentado.

g) as inoculações em colmos de plantas despendoadas re

velaram menores porcentagens de resistência, quando comparadas com as plantas polinizadoras das mesmas populações.

h) nas variedades estudadas existe uma correlação negativa, significativa ao nível de 1% de probabilidade, entre a porcentagem de plantas resistentes e a porcentagem de plantas quebradas.

## 7. RESUMO

O presente trabalho relata os resultados de avaliações de campo, de podridões do colmo e da espiga causadas por Diplodia zeae e Fusarium moniliforme em diferentes populações de milho.

Vinte e nove diferentes populações de milho foram inoculadas com os dois fungos em quatro diferentes experimentos de campo. Estudos sobre podridão de espiga foram realizados somente em um experimento, envolvendo nove populações. Nas mesmas populações foi avaliada a resistência à podridão do colmo em plantas normais e despendoadas.

As suspensões de esporos foram inoculadas no colmo com o auxílio de um inoculador especial, e nas espigas, através de pulverização. A leitura dos sintomas foi realizada aproximadamente 80 dias após a inoculação.

Os dados de infecção mostraram que aproximadamente 50% das plantas da maioria das populações foram suscetíveis na espiga. O cultivar MEB mostrou a mais alta porcentagem de espigas suscetíveis.

Com relação à podridão do colmo os dados mostraram diferenças entre as populações. Entre plantas não despendoadas a taxa de resistência variou de 0,8 a 11,6%.

Foi encontrada diferença, com relação à podridão do colmo, entre plantas despendoadas e não despendoadas. A porcentagem de resistência entre as plantas não despendoadas foi mais alta que aquela encontrada para plantas despendoadas.

Foi encontrada uma correlação negativa entre porcentagem de resistência e quebramento, nas populações estudadas.

A implicação dos resultados do presente trabalho no programa de melhoramento genético é discutida.

## 8. SUMMARY

The results of field evaluation on stalk and ear rots [Diplodia zeae (Schw) Lev. and Fusarium moniliforme Sheldon] in different corn germoplasm are reported.

Corn plants of 29 different populations were artificially inoculated with the two fungi in four different field experiments. Studies on ear rot were conducted in only one experiment involving nine selected populations. In these same populations stalk rot was evaluated on normal as well as on detasselled plants.

The spores were inoculated into the stalk by means of a special inoculator and the ears were sprayed with spore suspension both in plants in the flowering stage. The infection evaluation was made 80 days after inoculation.

Roughly 50 percent of the plants for most of the populations were resistant to ear rot. Only the MEB cultivar showed lower frequency of plants resistant to ear rot.

In relation to stalk rot the results revealed reduced frequency of plants resistant to the pathogens. The variation on non detasselled plants showing resistance was from 0.8 to 11.6%.

It should be pointed out the striking differences on the reaction to inoculation caused by the detasselling of the plants. The frequency of resistance among the non-detasselled plants was higher than among detasselled plants.

A negative correlation was found between stalk breakage and the percentage of resistance in the population.

The implication of the results obtained in the present work to the corn breeding program is discussed. It is suggested that selection for resistance to both kinds of rots should be carried out only in population with reasonable frequency of plants with such resistance. A recurrent selection could be used to improve populations with low frequency as a second step after the introduction of genes for resistance from any source available.

9. BIBLIOGRAFIA CITADA

1. BOOTHROYD, C.W. 1962. Histological structure of corn stalks in relation to field resistance to stalk rot. *Phytopath.* 52:726. (Abstr.).
2. DEVAY, J.E., COVEY, R.P. e LINDEN, D.B. 1957. Methods of testing for disease resistance in the corn disease nurseries at St. Paul and comparisons of 110 lines of corn for resistance to disease important in the north central region. *Plant. Dis. Rept.* 41:699-702.
3. DURRELL, L.W. 1925. A preliminary study of fungus action as de cause of down-corn. *Phytopath.* 15:146-164.
4. FOLEY, D.C. & VERNHAM, C.C. 1957. The effect of fertilizers on stalk rot of corn in Pennsylvania. *Phytopath.* 47:11-12. (Abstr.).
5. HOOKER, A.L. 1957. Factors affecting the spread of Diplodia zeae in inoculated corn stalks. *Phytopath.* 47:196-199.
6. IVANOFF, S.S. 1934. A plant inoculator. *Phytopath.* 24:74-76.
7. KOEHLER, B. 1959. Corn ear rots in Illinois. University of Illinois. *Agric. Exp. Sta. Bull.* 639.
8. \_\_\_\_\_. 1960. Corn stalk rots in Illinois. Illinois *Agric. Exp. Sta. Bull.* 658.
9. KUCHAREK, T.A. & KOMMEDAHL, T. 1964., Histological changes in corn stalks, infected with Fusarium monifforme. *Phytopath.* 54:898. (Abstr.).

10. LOESCH, P.J.Jr., COLVERT, O.H. & ZUKER, M.S. 1962. Interrelations of Diplodia stalk rot and two morphological traits associated with lodging of corn. Crop Sci. 2:469-472.
11. MICHAELSON, M.E. 1957. Factors affecting development of stalk rot of corn caused by Diplodia zeae and Gibberella zeae. Phytopath. 47:499-503.
12. \_\_\_\_\_ & CHRISTENSEN, J.J. 1953. Reduction in yield of corn due to stalk rot. Phytopath. 43:479 (Abstr.).
13. MORTIMORE, C.G. & WALL, R.E. 1965. Stalk rot of corn in relation to plant population and grain yield. Can. J. Plant Sci. 45:487-492.
14. OSUNA, J.A. 1971. Seleção massal estratificada para produção em duas populações de milho (Zea mays L.). Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária e Agronomia de Jaboticabal, 57 p. (mimeo).
15. PATERNIANI, E. 1966. Genética e Melhoramento do milho. In Cultura e Adubação do milho. Instituto Brasileiro de Potassa, 541 p.
16. RIKER, A.J. & RIKER, R.S. 1936. Introduction to research on plant diseases. John S. Swift Co., 117 p.
17. RUSCHEL, R. 1968. Interação genótipos x localidades na região Centro-Sul, em milho (Zea mays L.). Tese de M.S. apresentada à E.S.A. "Luiz de Queiroz", Piracicaba-SP, 60 p. (mimeo).
18. SCHEIFELE, G.L. 1969. A comparison of two methods of growing Giberella roseum to produce inoculum for testing maize for stalk rot resistance. Phytopath. 59:1340.

19. SMITH, G.M. & TROST, J.F. 1934. Diplodia ear rot in inbred and hybrid strains of sweet corn. *Phytopath.* 24: 151-157.
20. SMITH, A.L., HOPE, P.E. & HOLBERT, J.R. 1938. Development of a differential inoculation technique for Diplodia stalk rot of corn. *Phytopath.* 28:497-504.
21. ULLSTRUP, A.J. 1949. A method for producing artificial epidemics of Diplodia ear rot. *Phytopath.* 39:93-101.
22. WILCOXSON, R.D. 1962. Stalk rot in relation to yield of corn. *Phytopath.* 52:416-418.
23. WILLIAMS, L.E. & MENON, S.K. 1957. A cork borer technique of inoculating corn plants with stalk-rot fungi. *Plant Dis. Rept.* 41:111-113.
24. WYSONG, D.S. & HOOKER, A.L. 1966. Relation of soluble solids content and pith conditions to Diplodia rot in corn hybrids. *Phytopath.* 56:26-35.
25. YOUNG, H.C.Jr. 1943. The toothpick method of inoculating corn for ear and stalk rots. *Phytopath.* 33:16. (Abstr.).
26. ZUBER, M.S., GROGAN, C.O., MICHAELSON, M.E., GERHKE, C.W. & MONGE, J.F. 1957. Studies on the interrelation of field stalk lodging two stalk rotting fungi and chemical composition of corn. *Agron. J.* 49:328-331.