



**JAIME COSTA NETO**

**INFLUÊNCIA DE MÉTODOS DE INOCULAÇÃO  
DE *Stenocarpella maydis* EM HÍBRIDOS E NA  
QUALIDADE DE SEMENTES DE MILHO**

**LAVRAS – MG**

**2013**

**JAIME COSTA NETO**

**INFLUÊNCIA DE MÉTODOS DE INOCULAÇÃO DE *Stenocarpella  
maydis* EM HÍBRIDOS E NA QUALIDADE DE SEMENTES DE MILHO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

Orientador

Dr. João Almir Oliveira

**LAVRAS – MG**

**2012**

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca da UFLA**

Costa Neto, Jaime.

Influência de métodos de inoculação de *Stenocarpella maydis*  
em híbridos e na qualidade de sementes de milho / Jaime Costa  
Neto. – Lavras: UFLA, 2012.

107 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2012.

Orientador: João Almir Oliveira.

Bibliografia.

1. Inoculação. 2. Grãos ardidos. 3. Podridão branca da espiga. 4.  
Metodologias. 5. Resistência. I. Universidade Federal de Lavras. II.  
Título.

CDD – 631.521

**JAIME COSTA NETO**

**INFLUÊNCIA DE MÉTODOS DE INOCULAÇÃO DE *Stenocarpella maydis* EM HÍBRIDOS E NA QUALIDADE DE SEMENTES DE MILHO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 31 de julho de 2012.

Dr. João Almir Oliveira UFLA

Dr. Renato Mendes Guimarães UFLA

Dra. Patrícia de Oliveira Alvim Veiga IF Sul de Minas/Campus Machado

Dr. João Almir Oliveira  
Orientador

**LAVRAS – MG**  
**2012**

## **DEDICO E OFEREÇO**

*A Deus e a Nossa Senhora, que sempre estiveram ao meu lado, guiando-me e dando-me forças para seguir.*

*À minha querida e amada avó, pelos ensinamentos, carinho e dedicação.*

*Aos meus pais, Jaime e Anélia, que são meus exemplos de vida e educação.*

*Aos meus irmãos, Esteban e Mayra, que sempre estiveram presentes para me apoiar e me deram força e incentivo nos momentos difíceis.*

*A Dani, pelo amor, carinho, incentivo, ajuda e compreensão.*

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Departamento de Agricultura, pela oportunidade de realizar o mestrado.

À Comissão de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Pesquisa (CAPES), pela concessão de bolsa de estudos.

Ao professor Dr. João Almir Oliveira, a quem agradeço, em especial, pela orientação, amizade, ensinamentos e confiança para a execução deste trabalho.

Aos professores do Departamento de Agricultura, Setor de Sementes, João Almir, Maria Laene, Renato e Édila; aos pesquisadores Antônio e Stella e ao professor do Departamento de Fitopatologia, José da Cruz Machado, pelos ensinamentos e amizade.

Ao professor Dr. Renato Mendes Guimarães e à professora Dra. Patrícia de Oliveira Alvim Veiga, pelas opiniões, sugestões e participação na banca examinadora.

À empresa Biomatrix e ao amigo Lucas, pelo incentivo à pesquisa e disponibilização dos recursos para que fosse realizada.

Aos meus colegas do LAS, Everson, Iacute, Gustavo, Thaís, Valquíria, Vanessa, Thaisinha, Fred, Denílson e Cláudio, pela amizade, companheirismo e ajuda na condução dos experimentos.

Aos funcionários do Setor de Sementes, Walbert, Wilder, D. Dalva, D. Elza e Elenir e aos funcionários e colegas do Departamento de Fitopatologia, Pepê e Bruno, por toda a atenção e auxílio prestados.

Aos meus sogros, Luís e Rosânia e aos meus cunhados, Marcos, Matheus e Júlia, pelo carinho, ajuda, disposição e paciência.

E a todos que, de alguma forma, contribuíram para a conclusão deste trabalho.

## RESUMO

A resistência à doença causada por *Stenocarpella maydis* é herdada pela ação gênica aditiva, portanto, para verificação da incorporação de genes resistentes à podridão da espiga, nome comum da doença, se faz necessária a utilização de uma metodologia eficaz de inoculação artificial do fungo. Desta forma, os objetivos neste trabalho foram: avaliar o comportamento de híbridos quando inoculados com *Stenocarpella maydis*, comparar métodos de inoculação de *S. maydis* e avaliar as qualidades física, fisiológica e sanitária das sementes provenientes de plantas inoculadas com o fungo. Para isso foram instalados campos de produção em Lavras-MG e Patos de Minas-MG, utilizando-se de sementes de quatro híbridos. As plantas foram inoculadas com *S. maydis*, testando-se cinco metodologias, sendo elas, inoculação por aspersão, injeção na bainha da espiga, injeção no colmo, deposição no cartucho e infecção natural. Utilizou-se do delineamento blocos casualizados em esquema fatorial 4 x 5 (4 híbridos e 5 métodos de inoculação), utilizando-se três repetições. Nos dois ensaios foram avaliadas as incidências e severidades do fungo nas espigas, produtividade e porcentagem de grãos ardidos. Para avaliar os efeitos na qualidade física, fisiológica e sanitária das sementes colhidas foram avaliados os testes de germinação, envelhecimento acelerado, emergência em bandejas, teste de frio, teste de sanidade e peso de mil sementes, antes e depois de um período de doze meses de armazenamento, apenas das sementes colhidas no ensaio de Lavras. Pelos resultados obtidos verificou-se que não houve diferença de resistência dos híbridos para as determinações de incidência e severidade de *Stenocarpella maydis* nas espigas. Já para porcentagem de grãos ardidos, observaram-se diferenças quanto essa resistência. Maiores valores de incidência, severidade e porcentagem de grãos ardidos e menores valores de produtividade foram obtidos com as inoculações através de injeção na bainha e aspersão. Houve redução da qualidade fisiológica e sanitária das sementes oriundas das plantas inoculadas com *Stenocarpella maydis* através dos métodos de aspersão e injeção na bainha, tanto antes quanto após o armazenamento.

Palavras-chave: Podridão branca da espiga. Grãos ardidos. Metodologias de inoculação. Resistência de híbridos.

## ABSTRACT

The resistance to the disease caused by *Stenocarpella maydis* is inherited by additive gene action; therefore, for verification of the incorporation of genes resistant to ear rot, the common name of the disease, the use of an effective methodology of artificial inoculation of the fungi becomes necessary. In this way, the objectives in this work were: to evaluate the behavior of hybrids when inoculated with *Stenocarpella maydis*, compare inoculation methods of *S. maydis* and evaluate the physical, physiological and sanitary qualities of the seeds coming from plants inoculated with the fungus. For that purpose, production fields were set up in Lavras-MG and Patos de Minas-MG by making use of seeds of four hybrids. The plants were inoculated with *S. maydis*, testing five methodologies, namely, spray inoculation, ear sheath injection, stalk injection, whorl pouring and natural infection. The randomized block design in factorial scheme 4 x 5 (4 hybrids and 5 inoculation methods) utilizing three replications was used. In the assays, both the incidences and severities of the fungi in the ears, yield and percentages of discolored grains were evaluated. To evaluate the effects upon the physical, physiological and sanitary qualities of the seeds collected, the tests of germination, accelerated aging, emergence on tray, cold test, sanity test and weight of one thousand seeds before and after a period of twelve months' storage, only of the seeds collected in the Lavras assay. From the results obtained, it was found that there were no differences of resistance of the hybrids for the determinations of both incidence and severity of *Stenocarpella maydis* on the ears. However, for percentage of discolored grains, differences as to that resistance were found. Increased values of incidence, severity and percentage of discolored grains and decreased values of yield were obtained from the inoculations through sheath injection and spray. There was a reduction of the physiological and sanitary quality of the seeds coming from the plants inoculated with *Stenocarpella maydis* through the sprinkling and ear sheath injection methods, both before and after storage.

Keywords: White ear rot. Discolored grains. Inoculation methodologies. Resistance of hybrids.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	1. Placas contendo picnídios de <i>Stenocarpella maydis</i> . 2. Conídios do fungo em preparação para contagem em Câmara de Neubauer. 3. Germinação de conídios após a inoculação realizada em campo de produção.....	44
Figura 2	Representação da escala de notas utilizada.....	46
Figura 3	1.Placas contendo picnídios de <i>Stenocarpella maydis</i> . 2.Conídios do fungo em preparação para contagem em Câmara de Neubauer. 3.Germinação de conídios após a inoculação realizada em campo de produção.....	75
Figura 4	Representação da escala de notas utilizada.....	77

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	Dados médios de precipitação pluviométrica por decênio, em Lavras, MG, no período de 27/10 a 05/04 .....	40
Gráfico 2	Dados médios de precipitação pluviométrica por decênio, em Patos de Minas, MG, no período de 29/11 a 07/05.....	41
Gráfico 3	Dados médios de precipitação pluviométrica por decênio, em Lavras, MG, no período de 27/10 a 05/04 .....	72

## SUMÁRIO

	<b>CAPÍTULO 1</b> .....	12
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	12
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	15
<b>2.1</b>	<b>A cultura do milho</b> .....	15
<b>2.3</b>	<b>Podridão branca da espiga do milho</b> .....	17
<b>2.3.1</b>	<b>Fontes de inóculo e disseminação</b> .....	20
<b>2.3.2</b>	<b>Sobrevivência</b> .....	21
<b>2.3.3</b>	<b>Medidas de controle</b> .....	22
<b>2.3.4</b>	<b>Métodos de inoculação</b> .....	24
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	27
	<b>CAPÍTULO 2 Resistência de híbridos e comparação dos métodos de inoculação de <i>Stenocarpella maydis</i></b> .....	34
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	37
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	39
<b>2.1</b>	<b>Caracterização das áreas experimentais</b> .....	39
<b>2.2</b>	<b>Implantação dos experimentos</b> .....	41
<b>2.3</b>	<b>Obtenção dos isolados de <i>Stenocarpella maydis</i> e métodos de inoculação</b> .....	43
<b>2.4</b>	<b>Tratos culturais, colheita e pós-colheita</b> .....	44
<b>2.5</b>	<b>Características agronômicas avaliadas</b> .....	45
<b>2.5.1</b>	<b>Incidência de <i>Stenocarpella maydis</i> em espigas</b> .....	45
<b>2.5.2</b>	<b>Severidade de <i>Stenocarpella maydis</i> nas espigas</b> .....	45
<b>2.5.3</b>	<b>Produtividade de grãos</b> .....	47
<b>2.5.4</b>	<b>Porcentagem de grãos ardidos</b> .....	47
<b>2.6</b>	<b>Delineamento experimental e análise estatística</b> .....	47
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	49
<b>3.1</b>	<b>Experimento de Lavras</b> .....	49
<b>3.1.1</b>	<b>Incidência e severidade de <i>Stenocarpella maydis</i> em espigas</b> .....	50
<b>3.1.2</b>	<b>Produtividade</b> .....	51
<b>3.1.3</b>	<b>Porcentagem de grãos ardidos</b> .....	53
<b>3.2</b>	<b>Experimento de Patos de Minas</b> .....	55
<b>3.2.1</b>	<b>Incidência e severidade de <i>Stenocarpella maydis</i> em espigas</b> .....	56
<b>3.2.2</b>	<b>Produtividade</b> .....	58
<b>3.2.3</b>	<b>Porcentagem de grãos ardidos</b> .....	60
<b>4</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	62
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	63
	<b>CAPÍTULO 3 Efeito na qualidade fisiológica de sementes de milho oriundas de plantas inoculadas com o fungo <i>Stenocarpella maydis</i>, antes e após o armazenamento</b> .....	66

1	INTRODUÇÃO .....	69
2	MATERIAL E MÉTODOS .....	71
2.1	Caracterização das áreas experimentais .....	71
2.2	Implantação do experimento .....	72
2.3	Obtenção dos isolados de <i>Stenocarpella maydis</i> e métodos de inoculação.....	74
2.4	Tratos culturais, colheita e pós-colheita .....	75
2.5	Características agronômicas avaliadas.....	76
2.5.1	Avaliações primárias.....	76
2.5.1.1	Incidência de <i>Stenocarpella maydis</i> em espigas.....	76
2.5.1.2	Severidade de <i>Stenocarpella maydis</i> nas espigas.....	76
2.5.1.3	Produtividade de grãos .....	78
2.5.1.4	Porcentagem de grãos ardidos .....	78
2.5.1.5	Peso de mil sementes .....	78
2.5.2	Avaliações da qualidade fisiológica e de sanidade de sementes ...	79
2.5.2.1	Teste de germinação.....	79
2.5.2.2	Teste de envelhecimento acelerado .....	79
2.5.2.3	Emergência em bandejas .....	80
2.5.2.4	Teste de frio.....	80
2.5.2.5	Teste de sanidade.....	80
2.6	Delineamento experimental e análise estatística.....	81
3	RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	82
3.1	Avaliações primárias.....	82
3.1.1	Incidência e severidade de <i>Stenocarpella maydis</i> em espigas.....	83
3.1.2	Produtividade .....	84
3.1.3	Porcentagem de grãos ardidos .....	86
3.1.4	Peso de mil sementes .....	87
3.2	Testes da qualidade fisiológica e de sanidade de sementes .....	89
3.2.1	Teste de germinação.....	92
3.1.2	Teste de envelhecimento acelerado .....	94
3.1.3	Teste de emergência em bandeja .....	96
3.1.4	Teste de frio.....	98
3.1.5	Teste de sanidade.....	101
4	CONCLUSÕES .....	105
	REFERÊNCIAS .....	106

## CAPÍTULO 1

### 1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.), no contexto da agropecuária, é um dos cereais de maior importância econômica. Em razão de sua ampla distribuição e adaptação climática, pode ser cultivado em todos os continentes, tendo grande participação na maioria dos alimentos da cadeia alimentar humana e animal.

No Brasil, terceiro maior produtor, o milho é uma das poucas plantas produzidas em todos os estados. Todavia, sua produção está concentrada nas regiões sul, centro-sul e sudeste, sendo essas regiões responsáveis por cerca de 90% da produção.

Além da escolha de um bom material genético, por meio da utilização de sementes, o rendimento da cultura pode ser comprometido por outros fatores determinantes, como a alta sensibilidade a estresses de natureza abiótica, como condições climáticas e época de semeadura (BRACHTVOGEL et al., 2009; LARA CABEZAS, 2004). Além disso, o rendimento da cultura ainda é influenciado pela fertilidade do solo (AMARAL FILHO et al., 2005; FALLEIRO et al., 2003; MOLIN, 2000), práticas culturais (BALBINOT JÚNIOR; FLECK, 2004) e ocorrências de insetos praga (FARIAS; BARBOSA; BUSOLI, 2001) e doenças (FANTIN et al., 2008).

Ocorrendo em todos os locais onde o milho é cultivado, as doenças da cultura são responsáveis por significativas perdas durante o processo produtivo e, por isso, a qualidade das sementes no momento da implantação da lavoura deve ser especialmente levada em conta.

Sementes de milho, a exemplo do que ocorre com outras culturas, podem transportar e transmitir inúmeros patógenos, responsáveis por doenças

que causam variados danos na lavoura, o que, certamente, resulta em prejuízo ao produtor, vindo daí a necessidade de elas possuírem alta qualidade.

A qualidade sanitária das sementes se refere ao efeito deletério causado pela presença de patógenos associados às sementes, desde o campo de produção até o armazenamento. Dentre esses patógenos, destacam-se, principalmente, os fungos, que são mais prejudiciais por não serem detectados com facilidade no momento do armazenamento.

A cultura do milho é predisposta a inúmeras doenças fúngicas, destacando-se entre elas a podridão branca da espiga. Causada pelo agente etiológico *Stenocarpella maydis*, a podridão faz parte do complexo de doenças causadoras dos grãos ardidos e, além de interferir na densidade populacional e produtividade da lavoura, pode produzir micotoxinas que, embora ainda não estejam corretamente identificadas, tem-se o conhecimento de que elas alteram o valor nutricional dos grãos e danificam a qualidade final da ração, reduzindo o valor econômico dos grãos e causando intoxicação de animais.

A intensidade das podridões de diplodia, nome comum dado à doença, é maior nas lavouras de monocultura onde estão presentes os restos culturais. Na região sul do Brasil, os danos à produção de grãos têm sido maiores em lavouras conduzidas no sistema de plantio direto em monocultura. Isso porque alguns fungos, a exemplo de *Stenocarpella maydis*, têm a capacidade de sobreviver saprofiticamente em restos de cultura.

Como medidas de controle recomendadas, podem-se citar o uso de sementes de boa qualidade, o tratamento de sementes, a rotação de culturas, manutenção da lavoura livre de plantas invasoras, que podem ser hospedeiras do patógeno, e, principalmente, a resistência genética.

A resistência é herdada pela ação gênica aditiva, que é aquela em que se obtêm ganhos genéticos com o cruzamento de diferentes materiais, mantendo efeitos permanentes nas plantas. Para a verificação da incorporação de genes

resistentes à podridão da espiga é necessária a utilização de uma metodologia eficaz de inoculação artificial do fungo. Entretanto, não há relatos de metodologias de inoculação na literatura que forneçam dados consistentes de infecção de espigas com o fungo *Stenocarpella maydis*, distinguindo híbridos resistentes dos susceptíveis.

Os métodos de inoculação artificial devem causar os efeitos mais próximos possíveis aos da infecção natural e devem fornecer dados consistentes entre os genótipos e os diferentes locais de condução dos experimentos, possibilitando, assim, distinção entre materiais resistentes e susceptíveis. Além disso, a metodologia deve ser prática e de fácil aplicação.

Dessa forma, neste trabalho, foram realizadas pesquisas com os objetivos de avaliar o comportamento de híbridos, quando inoculados com *Stenocarpella maydis*; comparar métodos de inoculação de *S. maydis*, capazes de distinguir materiais e possíveis de serem utilizados em programas de melhoramento de plantas de milho e avaliar as qualidades física, fisiológica e sanitária das sementes provenientes de plantas inoculadas com o fungo.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 A cultura do milho

No Brasil, nos dias atuais, a produção comercial de milho tem se caracterizado pela divisão da produção da cultura em duas épocas de plantio. Uma delas, que ocorre na época tradicional, o plantio de verão, se inicia com o início das chuvas, por volta de setembro a novembro, dependendo da região. A outra época de plantio é a safrinha, ou segunda safra, que, geralmente, é plantada em fevereiro ou março, após a soja precoce, principalmente nos estados da região centro-oeste e nos estados do Paraná e São Paulo.

Resultante da soma das primeira e segunda safra, na safra agrícola de 2010/2011, a área total cultivada com milho em solos brasileiros, alcançou 12.994 mil hectares, a produção, atingiu valor de 56.018 mil toneladas e a produtividade, 4.311 kg.ha<sup>-1</sup> (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2012).

A baixa produtividade média de milho no Brasil, de 4.311 kg.ha<sup>-1</sup>, não reflete o bom nível tecnológico já alcançado por boa parte dos produtores voltados para lavouras comerciais, uma vez que as médias são obtidas nas mais diferentes regiões, em lavouras com diferentes sistemas de cultivos e finalidades.

Além disso, recentemente, tem se observado um decréscimo da área plantada na primeira safra, em função da concorrência por área com a cultura da soja. Entretanto, este fato tem sido compensado pelo aumento de área plantada na safrinha, que vem sendo conduzido em sistemas cada vez mais adaptados (CONAB, 2012).

Com relação ao ciclo, ocorrem maiores usos de híbridos de ciclo precoce, que beneficiam sistemas de consórcio e rotação de culturas, além da integração lavoura-pecuária. Além disso, o sistema de plantio utilizado é o

plantio direto, principalmente no cultivo do milho em grandes áreas. Entretanto, entre os pequenos produtores, embora seja crescente a adoção da tecnologia, ainda ocorre o predomínio do sistema convencional, que deveria ser recomendado para a abertura de novas áreas e aquelas onde estavam estabelecidas pastagens, já que o emprego excessivo de grades nos preparo do solo tem sido uma das causas de degradação das propriedades físicas do solo, com camadas pulverizadas na superfície, perdas por erosão e selamento superficial (MACEDO, 2009).

O que explica o crescente aumento da adoção do plantio direto são as vantagens que o sistema de plantio apresenta em relação ao plantio convencional, tais como redução das operações de preparo do solo, aumento da infiltração de água (TORMENA et al., 2002), manutenção da umidade no solo (COSTA et al., 2003), drástica redução da erosão (BAYER et al., 2004) e incorporação de matéria orgânica (BAYER; MIELNICZUK; MARTIN-NETO, 2000). Por outro lado, o plantio direto favorece o desenvolvimento de inúmeras doenças, principalmente aquelas em que o patógeno é capaz de sobreviver sobre os restos de cultura, como é o exemplo da diploidia (CASA; REIS; ZAMBOLIM, 2003) e aquelas em que os fungos permanecem vivos no solo (BUENO; AMBRÓSIO; SOUZA, 2007).

No que diz respeito à taxa de utilização de sementes, a comercialização legal registrada atingiu a percentagem de 84% (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE SEMENTES E MUDAS - ABRASEM, 2010) de uso de sementes no cultivo da cultura do milho. Destas sementes, nos últimos anos, tem-se verificado um crescente aumento da disponibilidade de híbridos simples, tendo, na safra de 2010/2011, esse percentual sido superior a 48% e a utilização de híbridos simples e triplos superior a 70%.

Embora haja grande adoção de utilização de sementes, estas não são livres de patógenos, que podem ser disseminados pelas sementes e causar

doenças no campo. As doenças da cultura do milho dividem-se em doenças foliares, podridões do colmo e doenças da espiga. Dentre as doenças foliares, pode-se citar a mancha foliar, causada por *Phaeosphaeria maydis*; as ferrugens, causadas por *Puccinia polysora* e *Puccinia sorghi* e a queima de turcicum, causada *Exserohilum turcicum* (PINTO, 2004). As podridões do colmo causam apodrecimento dos tecidos internos da medula do colmo e são causadas por *Fusarium moniliforme*, *Colletotrichum graminicola* e *Stenocarpella macrospora* (DENTI; REIS, 2003). Já as doenças da espiga são aquelas causadas por *Fusarium moniliforme*, *Giberella zae* e *Stenocarpella maydis*, que causam danos consideráveis na produção, principalmente em anos muito chuvosos, reduzindo a qualidade das sementes e aumentando a presença de toxinas.

### **2.3 Podridão branca da espiga do milho**

A podridão branca da espiga do milho, ou podridão de diplodia, como é comumente conhecida, é causada pelo “complexo *Stenocarpella*”. Duas espécies de *Stenocarpella* podem causar a doença, sendo *Stenocarpella maydis* (Berk.) Sutton, encontrada com maior frequência nas espigas e em testes de sanidade de sementes e grãos (DENTI; REIS, 2003) e *Stenocarpella macrospora* (Earle) Sutton, relatada com maior frequência causando podridões do colmo e manchas foliares (BRUNELLI et al., 2005).

A ocorrência das doenças é variada e depende das precipitações pluviométricas e da temperatura, ocorrendo em todas as regiões de cultivo, devido à eficiente transmissão desses patógenos pelas sementes e por ocorrer nas regiões produtoras de sementes. Normalmente, a doença causada por *S. maydis* é mais severa em regiões com altitudes acima de 700 m, temperaturas moderadas e, sobretudo, altas umidades relativas, e menos severa em regiões quentes, com

altitudes abaixo de 500 m, quando ocorre o aparecimento de *S. macrospora* (FREITAS, 2006).

Não se conhecem raças de *S. maydis* e *S. macrospora*, mas parece haver certa variabilidade e ação antagonica entre elas. Mário e Reis (2003), ao avaliarem reação de híbridos de milho à podridão branca, inocularam uma mistura de isolados de *S. maydis*, mas observaram maior incidência de *S. macrospora* do que de *S. maydis* nos grãos. Casa, Reis e Zambolim (2006) também relataram a recuperação de somente uma espécie em sementes apodrecidas quando, na verdade, as duas haviam sido inoculadas.

Tanto *Stenocarpella maydis* quanto *S. macrospora* apresentam picnídios subepidérmicos, globosos ou alongados, com coloração pardo-escura à preta, paredes grossas e ostíolo protuberante papilado. A distinção entre as espécies se dá pelo tamanho dos conídios que, no caso de *S. macrospora* (44-82 x 7,5-11,5 µm, com 1 a 3 septos), são de 2 a 3 vezes maiores (SUTTON, 1980).

Taxonomicamente, o fungo *Stenocarpella maydis* pertence à Classe Ascomycetes e Ordem Dothideales e, com relação aos hospedeiros, esta espécie é frequentemente associada apenas às plantas de milho. Entretanto, há relatos de que o fungo também parasita plantas de bambu, não havendo relatos de outros hospedeiros nas condições brasileiras (CASA; REIS; ZAMBOLIM, 2006; REIS; CASA; BRESOLIN, 2004).

O fungo foi descrito, pela primeira vez, em 1884, como *Diplodia maydis*, nos Estados Unidos, sendo que, naquele país, as podridões nos colmos e espigas tiveram grande importância até 1960, tornando-se mais raras nos anos seguintes, devido à inserção de híbridos tolerantes e, principalmente, à alta especificidade do fungo em relação ao seu hospedeiro (FREITAS, 2006).

Amplamente distribuída em todos os locais onde o milho é cultivado, no Brasil, a ocorrência do fungo é mais frequente nas regiões sul, sudeste e centro-

oeste, com intensidade e severidade variadas entre as regiões e dentro da mesma região (PINTO, 2006; PINTO et al., 1997; REIS; CASA, 1999).

A doença, que antes era mais comum na região sul (CASELA; FERREIRA; PINTO, 2006), que propicia melhores condições para o desenvolvimento do fungo, tem sido cada vez mais observada em outras regiões. Morello et al. (1994) constataram, na safra 93/94, no estado do Tocantins, que 15,9% das espigas de 42 cultivares híbridas de milho, apresentavam sintomas de podridão. Dentre essas, 75,5% estavam infectadas por *Fusarium* spp. e 19,1% por *Stenocarpella* spp.

Sementes e grãos de milho infectados por *Gibberella zeae*, *Penicillium* spp. e *Aspergillus* spp., além de *Fusarium* spp. e *Stenocarpella* spp., são denominados “grãos ardidos” (PINTO, 2006). As sementes com sinais dos fungos são descartadas ou vendidas como grãos, mas os grãos, quando muito infectados, além de apresentarem menor valor econômico e nutricional, são impróprios para o consumo e para a formulação de rações, visto que podem estar contaminados por micotoxinas, que podem levar os animais à morte (ALVIM, 2010).

Embora não haja uma identificação correta das micotoxinas (CASA; REIS; ZAMBOLIM, 2006; PINTO, 2005; TRENTO; IRGANG; REIS, 2002), Pinto (2006) atribuiu a toxina diplodiol ao fungo *S. macrospora* e a diplodiatoxina ao fungo *S. maydis*, havendo relatos de que ambas são responsáveis por micotoxicoses em bovinos, ovinos, frangos e ratos.

A podridão de diplodia pode causar redução na qualidade das sementes e grãos e, ainda, severa redução de produtividade. Os sintomas na espiga, quando a infecção ocorre logo após a fecundação, iniciam-se na sua base. As brácteas da espiga tornam-se despigmentadas e de coloração parda. Quando a infecção ocorre duas semanas após a polinização, toda a espiga pode tornar-se podre, apresentando coloração pardo-cinza a esbranquiçada, enrugada e leve, com as

palhas internas fortemente aderidas umas às outras ou aos grãos, devido ao crescimento do micélio do fungo (SHURTLEFF, 1980).

Picnídios negros podem se formar sobre a palha, as brácteas florais, o sabugo e os grãos. Os grãos infectados apresentam cor cinza-fosca a marrom. As espigas infectadas ao final do ciclo da cultura não mostram sintomas externos, podendo ocorrer a formação de micélio branco entre as fileiras de grãos (WHITE, 1999).

Infecções tardias podem ocorrer, pelo transporte dos conídios do fungo pela ação dos ventos. Em híbridos não decumbentes, respingos de chuva são capazes de fazer os conídios germinarem, tendo-se, a partir daí, infecções que se iniciam na ponta das espigas.

A doença causada por *Stenocarpella maydis* apresenta, ainda, como um dos danos mais importantes, o efeito negativo sobre a germinação de sementes, podendo matar o embrião ou comprometer o vigor das plantas emergidas. De acordo com Duarte et al. (2009), alguns isolados de *S. maydis* induzem, ainda, à viviparidade, ou seja, à germinação prematura das sementes ainda nas espigas.

### **2.3.1 Fontes de inóculo e disseminação**

De acordo com Carvalho et al. (2004), a semente desempenha papel fundamental na transmissão e na disseminação das espécies de *Stenocarpella*. Considerada um dos principais veículos de disseminação deste patógeno, a semente de milho, portadora de micélio dormente, é responsável pela introdução dos fungos em novas áreas de cultivo, mesmo distante de seu local de produção, constituindo, assim, importantes fontes de inóculo primário para a podridão de sementes, morte de plântulas e vigor de plantas infectadas sobreviventes, resultando em redução significativa do estande.

Uma vez que o micélio dormente esteja presente no pericarpo, no endosperma ou no embrião, ele pode reiniciar seu crescimento no momento do plantio, gerando focos de disseminação dos patógenos (CASA et al., 2000; CASA; REIS; ZAMBOLIM, 2006).

Outra fonte de inóculo são os restos culturais remanescentes na superfície após a colheita. Ao avaliar a influência de sistemas de cultivo nas podridões do colmo causadas por diplodia na África do Sul, Flett, McLaren e Wehner (1998) verificaram que a incidência de podridão de espigas e a quantidade de resíduo na superfície apresentaram relação linear positiva.

No caso dos restos culturais, a liberação do inóculo é mais intensa sob clima úmido e quente, em regiões com excesso de chuvas. Nessas condições, os conídios são exsudados dos picnídios, produzidos nos restos da cultura, formando cirros longos que são disseminados pelos respingos de chuva e pelo vento (SARTORI, 2003).

De acordo com Flett, Wehner e Smith (1992), Trento, Irgang e Reis (2002) e Ullstrup (1964), maiores intensidades da podridão da espiga ocorreram naquelas situações em que as plantas se encontravam próximas da fonte de inóculo. Ullstrup (1964) relatou incidência de 49% a 61% de podridão de espiga em plantas localizadas ao lado da fonte de inóculo, com significativa redução da incidência em plantas distantes da fonte de inóculo.

### **2.3.2 Sobrevivência**

Com relação à sobrevivência, as espécies de *Stenocarpella* são consideradas microrganismos necrotróficos, apresentando fase parasítica nas plantas e no interior das sementes, na forma de micélio dormente; uma fase saprófita, nos restos de cultura e sobrevivem, ainda, de forma livre, no solo, sob

a forma de conídios ou de micélio dormente (FLETT; WEHNER, 1991; FLETT; WEHNER; SMITH, 1992; PINTO et al., 1997).

O sistema de plantio direto e a monocultura favorecem a sobrevivência de fungos necrotróficos, devido ao maior tempo de decomposição dos restos culturais remanescentes na superfície do solo. A severidade da doença pode ser ainda maior sem a adoção da rotação de culturas, uma vez que a palhada promove a manutenção do inóculo no local, facilitando a disseminação da doença (TRENTO; IRGANG; REIS, 2002).

O fungo *S. maydis* sobrevive saprofiticamente nos restos culturais de milho por até 29 meses, colonizando os tecidos celulares e formando picnídios subepidérmicos (CASA, 2000). Dessa forma, os propágulos encontram-se posicionados de maneira ideal para esporulação, liberação, dispersão e infecção de plantas de milho em lavouras subsequentes. Isso justifica a maior incidência dessa doença em sistema de monocultura do milho (CASA, 2000; CASA et al., 2000; FLETT; MCLAREN; WEHNER, 1998; FLETT; WEHNER, 1991; REIS; CASA; BRESOLIN, 2004).

### **2.3.3 Medidas de controle**

O controle integrado de *Stenocarpella maydis* tem preconizado o uso de cultivares resistentes, destruição de restos culturais de milho, rotação de culturas, uso de sementes sadias (JULIATTI et al., 2007) e tratamento de sementes, além de população adequada e equilíbrio nutricional (SARTORI, 2003).

De acordo com White (1999), a utilização de populações elevadas de plantas, aliada aos desequilíbrios nutricionais e à suscetibilidade dos genótipos, contribui para o aumento da incidência das podridões de colmo, espigas e de

grãos ardidos. Segundo o referido autor, nessas condições, tem sido observado um aumento na severidade da podridão de diplodia.

Segundo Barrocas et al. (2012), a utilização de sementes saudáveis é uma importante estratégia de manejo de doenças e uma diagnose rápida e confiável é necessária. Nesse sentido, Casa, Reis e Zambolim (2006) relataram que, em lavoura oriunda de plantio direto, conduzida sob rotação de culturas, o controle de *S. maydis*, obrigatoriamente, deve ser feito pelo uso de sementes saudáveis e tratamento das sementes com fungicidas que levem à erradicação dos fungos.

Outras práticas utilizadas são a adoção da rotação de culturas e o manejo da população de plantas. Avaliando o efeito da rotação de culturas, da monocultura e da densidade de plantas na incidência de doenças, Denti e Reis (2001) relataram que, em sistema de monocultura, a frequência dos fungos *Stenocarpella maydis* e *S. macrospora* foi de 8,4% e 4,8%, respectivamente, enquanto, em sistema de rotação de culturas, foi de 3,4% e 3,3%. Além disso, os autores relataram que as menores densidades de plantas, nos dois sistemas, monocultura e rotação, foram as que apresentaram as menores incidências de doenças.

Segundo Vida et al. (2004), a nutrição mineral de plantas determina, em grande parte, a conformação de suas estruturas histológicas e morfológicas, a intensidade de muitas atividades fisiológicas e, conseqüentemente, a resistência ou a susceptibilidade às doenças e, por isso, o equilíbrio nutricional de plantas é tão importante.

Além das medidas de controle listadas, como medida preferencial de controle recomenda-se o emprego de híbridos resistentes a *S. maydis* (REIS; CASA; BRESOLIN, 2004; WHITE, 1999). No entanto, dentre as cultivares de milho disponíveis para comercialização na safra 2008/09, no Brasil, nenhuma apresentava informações sobre reação à *S. maydis* (CRUZ; PEREIRA FILHO, 2008).

A resistência genética de plantas de milho à *Stenocarpella* vem sendo investigada, há décadas, em diversas partes do mundo (ANDERSON; WHITE, 1994; KOEHLER, 1951; PAPPELIS et al., 1973; PAPPELIS; SMITH, 1963), por técnicas de inoculação em diferentes sítios de infecção e em diferentes estádios de desenvolvimento da planta (BIZZETTO; HOMECHIN; SILVA, 2000; CHAMBERS, 1988; FOLEY, 1960; KLAPPROTH; HAWK, 1991; PEREIRA; PEREIRA, 1976; ULLSTRUP, 1970).

### **2.3.4 Métodos de inoculação**

Diversos sítios de infecção e diversos estádios fenológicos têm sido testados, havendo, todavia, discrepância entre resultados. Por se tratar de microrganismos que estão sujeitos às mínimas alterações das condições de umidade, pluviosidade e temperatura, as infecções com o fungo *Stenocarpella maydis*, por meio de métodos artificiais, devem ocorrer em específico estágio fenológico e em locais que propiciem o seu desenvolvimento, para que ocorra a infecção da espiga.

A época, ou estágio fenológico, para a inoculação depende do órgão da planta que se deseja inocular. Um dos métodos de inoculação empregados é a inoculação por meio da inserção de palitos previamente colonizados com o fungo, no interior da região central de cada espiga, durante a fase de grãos leitosos e pastosos (CHAMBERS, 1988). Entretanto, de acordo com o referido autor, tal método se mostrou drástico, pois todos os materiais testados se comportaram como susceptíveis.

O método de aspersão consiste em pulverizar um volume conhecido de suspensão de conídios do fungo sobre os estilos-estigmas das espigas. Tal método também apresenta controvérsia quanto às épocas de aspersão. Chambers (1988) realizou a aspersão dez dias após metade da população de plantas ter

emitido a flor feminina. Klapproth e Hawk (1991) alcançaram melhores resultados quando as inoculações foram realizadas após pleno florescimento e Koehler (1951) e Ullstrup (1949), quando inoculações foram feitas vinte dias depois que 50% da população de plantas emitiram a flor feminina.

Outro método utilizado é a injeção da suspensão de conídios na bainha da espiga. De acordo com Bensch, Staden e Rijkenberg (1992), esse método mostra boa eficiência em distinguir germoplasmas resistentes dos susceptíveis, quando a inoculação é realizada até dez dias após a floração plena. De acordo com Mário e Reis (2003), o método tem sido testado desde o estágio de floração plena até 25 dias após a floração, tendo-se obtido os melhores resultados até os quinze dias após a floração.

Quando se utiliza a inoculação por deposição, três podem ser as metodologias. Em duas delas, insere-se o material infectante dentro da folha do cartucho e, em uma terceira, realiza-se a deposição de grãos infectados, três semanas após o florescimento, entre a base e a folha da espiga (BENSCH, 1995b). Quando realizada dentro da folha do cartucho, a inoculação pode ser feita por meio da deposição da solução contendo os conídios do fungo, uma semana antes da antese, ou pode ser feita a inserção de um número pré-determinado de grãos de milho-pipoca previamente autoclavados e, posteriormente, infectados com o fungo, nos estádios de oito a doze folhas (BENSCH, 1995a; WARREN; ONKEN, 1981).

Outra metodologia empregada usualmente para a infecção de plantas por fungos é a injeção no colmo das plantas. Amplamente utilizada para a avaliação das podridões do colmo causada, principalmente, por *Stenocarpella macrospora* (HOLLEY; GOODMAN, 1988) e *Colletotrichum graminicola* (BERGSTROM; NICHOLSON, 1999; BORGES; RESENDE; PINHO, 2001; HOLLEY; GOODMAN, 1988; NICHOLSON; WARREN, 1981), não há relatos da

utilização dessa metodologia visando à inoculação de *Stenocarpella maydis* no colmo e a possível transmissibilidade para as espigas.

Além das metodologias, outro assunto que é recorrente diz respeito à quantidade do inóculo. Klapproth e Hawk (1991) relataram que o ajuste da quantidade do inóculo ideal para infecção, tal como ocorre naturalmente, deveria ser em torno de 250 mil conídios por planta e, usando tal quantidade de inóculo, observaram 100% de infecção de espigas em determinada linhagem susceptível.

Outros autores, como Bensch, Staden e Rijkenberg (1992), com o objetivo de determinar a posição ótima de inoculação e o estágio de desenvolvimento da planta mais susceptível à infecção, relataram que o ajuste de 20.000 conídios do fungo por planta foi suficiente para causar podridão da espiga na ordem de 33%, em um determinado híbrido susceptível.

Já Moremoholo, Shimelis e Mashela (2010), avaliando o rendimento e a reação de espigas provenientes do cruzamento de 54 linhagens com uma linhagem pré-determinada, relataram que os melhores resultados alcançados em testes preliminares foram observados com a utilização de  $5 \times 10^5$  conídios por planta. De posse desta informação, os autores inocularam o fungo nas linhagens maternas e observaram que apenas as sementes de dois dos híbridos top crosses produzidos do cruzamento das linhagens tinham maior rendimento de grãos e resistência à *Stenocarpella maydis*.

## REFERÊNCIAS

- ALVIM, K. R. T. et al. Quantificação da área foliar e efeito da desfolha em componentes de produção de milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 5, p. 1017-1022, maio 2010.
- AMARAL FILHO, J. P. R. do et al. Espaçamento, densidade populacional e adubação nitrogenada na cultura do milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 29, n. 3, p. 467-473, maio/jun. 2005.
- ANDERSON, B.; WHITE, D. G. Evaluation of methods for identification of corn genotypes with stalk rot and lodging resistance. **Plant Disease**, Quebec, v. 76, n. 6, p. 590-593, June 1994.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE SEMENTES E MUDAS. **Anuário Abrasem 2010**. Pelotas: Becker & Peske, 2010. 127 p.
- BALBINOT JÚNIOR; FLECK, N. G. Manejo de plantas daninhas na cultura de milho em função do arranjo espacial de plantas e características dos genótipos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 6, p. 245-252, nov./dez. 2004.
- BARROCAS, E. N. et al. Sensibility of the PCR technique in the detection of *Stenocarpella* sp. associated with maize seeds. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 34, n. 2, p. 218-224, 2012.
- BAYER, C. et al. Armazenamento de carbono em frações lábeis da matéria orgânica de um Latossolo Vermelho sob plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 7, p. 677-683, jul. 2004.
- BAYER, C.; MIELNICZUK, J.; MARTIN-NETO, L. Efeito de sistemas de preparo e de cultura na dinâmica da matéria orgânica e na mitigação das emissões de CO<sub>2</sub>. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 24, n. 3, p. 599-607, maio/jun. 2000.
- BENSCH, M. J. An evaluation of inoculation techniques inducing *Stenocarpella maydis* ear rot on maize. **South Africa Tydskrif Plant Grong**, Pretoria, v. 12, n. 5, p. 172-174, May 1995a.
- \_\_\_\_\_. *Stenocarpella maydis* (Berk.) Sutton colonization of maize ears. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 143, n. 3, p. 597-599, Mar. 1995b.

BENSCH, M. J.; STADEN, J. van; RIJKENBERG, F. H. J. Time and site of inoculation of maize for optimum infection of ears by *Stenocarpella maydis*. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 136, n. 12, p. 265-269, Dec. 1992.

BERGSTROM, G. C.; NICHOLSON, R. L. The biology of corn anthracnose: knowledge to exploit for improved management. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 83, n. 7, p. 596-608, July 1999.

BIZZETTO, A.; HOMECHIN, M.; SILVA, H. P. Técnicas de inoculação de *Diplodia maydis* em milho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 1, p. 21-29, jan./mar. 2000.

BORGES, M. F.; RESENDE, M. L. V.; PINHO, R. G. von. Inoculação artificial de colmos de milho em diferentes idades e concentrações de inóculo e sua relação com a expressão da resistência a *Fusarium moniliforme*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 4, p. 715-720, dez. 2001.

BRACHTVOGEL, E. L. et al. Densidades populacionais de milho em arranjos espaciais convencional e equidistante entre plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 8, p. 2334-2339, ago. 2009.

BRUNELLI, K. R. et al. Germinação e penetração de *Stenocarpella macrospora* em folhas de milho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 2, p. 187-190, abr./jun. 2005.

BUENO, C. J.; AMBRÓSIO, M. M. Q.; SOUZA, N. L. Produção e avaliação da sobrevivência de estruturas de resistência de fungos fitopatogênicos habitantes do solo. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 33, n. 1, p. 47-55, 2007.

CARVALHO, E. M. et al. Relação do tamanho de sementes de milho e doses de fungicida no controle de *Stenocarpella maydis*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 4, p. 389-393, out./dez. 2004.

CASA, R. T. **Sobrevivência de *Stenocarpella maydis* e *Stenocarpella macrospora* em restos culturais de milho**. 2000. 145 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2000.

CASA, R. T. et al. Prevenção e controle de doenças na cultura do milho. In: SANDINI, I. A.; FANCELLI, A. L. (Ed.). **Milho: estratégias de manejo para a região sul**. Guarapuava: Fundação Agrária de Pesquisa Agropecuária, 2000. p. 39-58.

CASA, R. T.; REIS, E. M.; ZAMBOLIM, L. Decomposição dos restos culturais do milho e sobrevivência saprofítica de *Stenocarpella macrospora* e *S. maydis*. **Fitopatologia Brasileira**, Fortaleza, v. 28, n. 4, p. 355-361, jul./ago. 2003.

\_\_\_\_\_. Doenças do milho causadas por fungos do gênero *Stenocarpella*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 5, p. 427-439, set./out. 2006.

CASELA, C. R.; FERREIRA, A. S.; PINTO, N. F. J. A. **Doenças na cultura do milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA/CNPMS, 2006. 14 p. (Circular Técnica, 83).

CHAMBERS, K. R. Effect of time of inoculation on Diplodia stalk and ear rot of maize in South Africa. **Plant Disease**, Quebec, v. 72, p. 529-531, 1988.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento de safra brasileira: grãos, quarto levantamento, janeiro 2012**. Brasília, 2012. 38 p.

COSTA, F. S. et al. Propriedades físicas de um Latossolo Bruno afetadas pelos sistemas plantio direto e preparo convencional. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 27, n. 3, p. 527-535, maio/jun. 2003.

CRUZ, J. C.; PEREIRA FILHO, I. A. **Mais de 300 cultivares de milho são disponibilizadas no mercado de sementes do Brasil para a safra 2008/09**. Sete Lagoas: EMBRAPA Milho e Sorgo, 2008. Disponível em: <<http://www.cnpms.embrapa.br/milho/cultivares/index.php>>. Acesso em: 11 out. 2011.

DENTI, E.; REIS, R. T. Efeito da rotação de culturas, da monocultura e da densidade de semeadura de plantas na incidência das podridões da base do colmo e no rendimento de grãos de milho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, n. 3, p. 635-639, set. 2001.

\_\_\_\_\_. Levantamento de fungos associados às podridões de colmo e quantificação de danos em lavouras de milho do Planalto Médio Gaúcho, RS e dos campos gerais do Paraná. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 6, p. 585-590, nov./dez. 2003.

DUARTE, R. P. et al. Comportamento de diferentes genótipos de milho com aplicação foliar de fungicida quanto à incidência de fungos causadores de grãos ardidos. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 25, n. 4, p. 112-122, 2009.

FALLEIRO, R. M. et al. Influência dos sistemas de preparo nas propriedades químicas e físicas do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, MG, v. 27, n. 6, p. 1097-1104, nov./dez. 2003.

FANTIN, G. M. et al. Efeito da mancha de cercospora na produtividade do milho safrinha, no Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 7, n. 3, p. 231-250, 2008.

FARIAS, P. R. S.; BARBOSA, J. C.; BUSOLI, A. C. Distribuição espacial da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), na cultura do milho. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 4, p. 681-689, Dec. 2001.

FLETT, B. C.; MCLAREN, N. W.; WEHNER, F. C. Incidence of ear rot pathogens under alternating corn tillage practices. **Plant Disease**, Quebec, v. 82, n. 7, p. 782-784, 1998.

FLETT, B. C.; WEHNER, F. C. Incidence of *Stenocarpella* and *Fusarium* cob rots in monoculture maize under different tillage systems. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 133, n. 4, p. 327-333, Dec. 1991.

FLETT, B. C.; WEHNER, F. C.; SMITH, M. F. Relationship between maize stubble placement in soil and survival of *Stenocarpella maydis* (*Diplodia maydis*). **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 134, n. 1, p. 33-38, Jan. 1992.

FOLEY, D. C. The response of corn to inoculation with *Diplodia zae* and *Giberella zae*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 50, p. 146-150, 1960.

FREITAS, M. A. de. **Variabilidade, danos e detecção de *Stenocarpella maydis* e *Stenocarpella macrospora* em sementes de milho**. 2006. 164 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2006.

HOLLEY, R. N.; GOODMAN, M. M. Stalk quality and stalk rot resistance of tropical hybrid maize derivatives. **Plant Disease**, Quebec, v. 73, p. 321-324, 1988.

JULIATTI, F. C. et al. Efeito do genótipo de milho e da aplicação foliar de fungicidas na incidência de grãos ardidos. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 23, n. 2, p. 34-41, 2007.

KLAPPROTH, J. C.; HAWK, J. A. Evaluation of four inoculation techniques for infecting corn ears with *Stenocarpella maydis*. **Plant Disease**, Quebec, v. 75, n. 10, p. 1057-1060, Oct. 1991.

KOEHLER, B. Husk coverage and ear declination in relation to corn ear rots. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 41, p. 22, 1951.

LARA CABEZAS, W. A. R. et al. Influência da cultura antecessora e da adubação nitrogenada na produtividade de milho em sistema plantio direto e solo preparado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 4, p. 389-406, jul./ago. 2004.

MACEDO, M. C. M. Integração lavoura e pecuária: o estado da arte e inovações tecnológicas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 38, n. 1, p. 133-146, jan./fev. 2009.

MÁRIO, J. L.; REIS, E. M. Reação de híbridos de milho à podridão branca da espiga. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 1, p. 155-158, jan./mar. 2003.

MOLIN, R. **Espaçamento entre linhas de semeadura na cultura de milho**. Castro: Fundação ABC para Assistência e Divulgação Técnica Agropecuária, 2000. 2 p.

MORELLO, C. L. et al. Fungos associados à podridões em espigas de milho, ciclo normal, no estado do Tocantins. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 19, n. 2, p. 272, mar./abr. 1994.

MOREMOHOLO, L.; SHIMELIS, H.; MASHELA, P. W. Yield response and *Stenocarpella* ear rot reaction among selected maize inbred lines and top cross hybrids. **Euphytica**, Wageningen, v. 174, n. 2, p. 231-238, Aug. 2010.

NICHOLSON, R. L.; WARREN, H. L. The issue of races of *Colletotrichum graminicola* pathogenic to corn. **Plant Disease**, Quebec, v. 65, p. 143-145, 1981.

PAPPELIS, A. J. et al. Parenchyma cell death and *Diplodia maydis* susceptibility in stalks and ears of corn. **Plant Disease**, Quebec, v. 57, p. 308-310, 1973.

PAPPELIS, A. J.; SMITH, F. G. Relationship of water content and living cells to spread of *Diplodia zeae* in corn stalks. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 53, p. 1100-1105, 1963.

PEREIRA, O. A. P.; PEREIRA, W. S. P. Estudo de *Diplodia zea* (Schw.) Lev. e *Fusarium moniliforme* Sheldon em colmo de milho. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v. 2, p. 157-165, 1976.

PINTO, N. F. J. de A. Controle químico de doenças foliares em milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 3, n. 1, p. 134-138, 2004.

\_\_\_\_\_. **Grãos ardidos em milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA/CNPMS, 2005. 14 p. (Circular Técnica, 66).

\_\_\_\_\_. **Podridão branca da espiga do milho**. Sete lagoas: EMBRAPA, 2006. 6 p. (Boletim Técnico, 141).

PINTO, N. F. J. de A.; FERNANDES, F. T.; OLIVEIRA, E. Milho (*Zea mays* L.): controle de doenças. In: VALE, F. X. R.; ZAMBOLIM, L. (Ed.). **Controle de doenças de plantas grandes culturas**. Viçosa, MG: UFV, 1997. p. 821-863.

REIS, E. M.; CASA, R. T. Ciclos biológicos e epidemiologia: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Diplodia* e *Fusarium*. In: SIMPÓSIO SOBRE MICOTOXINAS EM GRÃOS, 1., 1999, Brasília. **Resumos...** Brasília: Fundação Cargill/Fundação ABC, 1999. p. 21-39.

REIS, E. M.; CASA, R. T.; BRESOLIN, A. C. R. **Manual de diagnose e controle de doenças do milho**. 2. ed. Lages: Graphel, 2004. 144 p.

SARTORI, F. A. **Sementes de milho e restos culturais de aveia como fonte de inóculo para as podridões da base do colmo**. 2003. 93 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2003.

SHURTLEFF, M. C. **Compendium of com diseases**. Urbana: APS, 1980. 105 p.

SUTTON, B. C. **The Coelomycetes**. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1980. 696 p.

TORMENA, C. A. et al. Densidade, porosidade e resistência à penetração em Latossolo Vermelho distrófico cultivado sob diferentes sistemas de preparo do solo. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 59, n. 4, p. 795-801, out./dez. 2002.

TRENTO, S. M.; IRGANG, H. H.; REIS, E. M. Efeito da rotação de culturas, da monocultura e da densidade de plantas na incidência de grãos ardidos em milho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 3, p. 609-613, maio/jun. 2002.

ULLSTRUP, A. J. A method for producing artificial epidemics of *Diplodia* ear rot. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 39, p. 93-101, 1949.

\_\_\_\_\_. Methods for inoculating corn ears with *Gibberella zeae* and *Diplodia maydis*. **Plant Disease**, Quebec, v. 54, p. 658-662, 1970.

\_\_\_\_\_. Observation on two epiphytotics of *Diplodia* ear rot of corn in Indiana. **Plant Disease**, Quebec, v. 48, p. 414-415, 1964.

VIDA, J. B. et al. Manejo de doenças de plantas em cultivo protegido. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, p. 355-372, 2004.

WARREN, H. L.; ONKEN, S. K. A new technique for evaluating ear rot resistance. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 71, p. 911, 1981. Abstract.

WHITE, D. G. **Compendium of corn diseases**. Saint Paul: The American Phytopathological Society, 1999. 78 p.

## **CAPÍTULO 2**

### **RESISTÊNCIA DE HÍBRIDOS E COMPARAÇÃO DOS MÉTODOS DE INOCULAÇÃO DE *Stenocarpella maydis***

## RESUMO

Os fungos são os principais patógenos da cultura do milho e as doenças causadas por eles ocorrem em todos os locais onde o cereal é cultivado. Dentre as doenças fúngicas, *Stenocarpella maydis*, causador da podridão branca da espiga do milho, tem causado sérios danos e faz parte do complexo dos grãos ardidos. Para o controle da inclusão de genes resistentes à podridão da espiga, se faz necessária a utilização de uma metodologia eficiente de inoculação artificial do fungo, para comprovação da resistência dos materiais. Os objetivos, neste experimento, foram avaliar o comportamento de híbridos, quando inoculados com *S. maydis* e contrastar métodos de inoculação do agente etiológico do fungo, possíveis de serem utilizados em programas de melhoramento de plantas. Para isso foi instalado um campo de produção, utilizando-se sementes de quatro híbridos. As plantas foram inoculadas com *S. maydis*, testando-se cinco metodologias, sendo elas inoculação por aspersão, injeção na bainha da espiga, injeção no colmo, deposição no cartucho e infecção natural. Utilizou-se o delineamento blocos casualizados em esquema fatorial 4 x 5 (4 híbridos e 5 métodos de inoculação), utilizando-se três repetições. Dez dias após todas as plantas de cada parcela emitir o estilo-estigma, cada uma das plantas das linhas úteis foram inoculadas, de acordo com as respectivas metodologias, com suspensão contendo  $5 \times 10^5$  conídios. As avaliações de incidência, severidade da doença, além de produtividade e porcentagem de grãos ardidos foram realizadas tão logo as espigas foram colhidas. Pelos resultados obtidos, verificou-se que não houve diferenças de resistência dos híbridos para as determinações de incidência e de severidade de *Stenocarpella maydis* nas espigas. Já para a porcentagem de grãos ardidos, observaram-se diferenças quanto a essa resistência. Maiores valores de incidência, severidade e porcentagem de grãos ardidos e menores valores de produtividade foram obtidos com as inoculações por meio de injeção na bainha da espiga e aspersão.

Palavras-chave: Podridão branca da espiga. Grãos ardidos. Metodologias de inoculação. Resistência de híbridos.

## ABSTRACT

Fungi are the major pathogen of the corn crop and the diseases caused by them occur in all the places where corn is cultivated. From among the fungal diseases, *Stenocarpella maydis*, causative agent of white corn ear rot, has caused serious damages and is part of the discolored grain complex. For the control of the inclusion of ear rot-resistant genes, the use of an efficient methodology of artificial inoculation of the fungus for the confirmation of the resistance of the materials is necessary. The objective in this experiment were to evaluate the behavior of hybrid when inoculated with *S. maydis* and check inoculation methods of the etiologic agent of the fungus, possible of being utilized in plant breeding programs. For that purpose, cropping field was established by making use of seeds of four hybrids. The plants were inoculated with *S. maydis*, testing five methodologies, namely, spray inoculation, ear sheath injection, stalk injection, whorl pouring and natural infection. The randomized block design in factorial scheme 4 x 5 (4 hybrids and 5 inoculation methods) utilizing three replications was used. Ten days after all the plants of each plot emitting the style-stigma, each of the plants of the useful rows was inoculated according to the respective methodologies, with the suspension containing  $5 \times 10^5$  conidia. The evaluations of incidence, severity of the disease in addition to yield and percentage of discolored grains were utilized as soon as the ears were collected. From the results obtained, it was found there were no differences of resistance of the hybrids for the determinations of incidence and severity of *Stenocarpella maydis* in the ears. But for the percentage of discolored grains, differences as to that resistance were found. Higher values of incidence, severity and percentage of discolored grains and lower values of yield were obtained with the inoculations through injection on the ear sheath injection and spray.

Keywords: White ear rot. Discolored grains. Inoculation methodologies. Resistance of hybrids.

## 1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é cultivado em todos os estados brasileiros e tem participação em quase 30% da área atualmente cultivada no Brasil (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2012).

Nos últimos anos, as doenças têm se tornado alvo de grande preocupação por parte dos produtores e técnicos envolvidos com a cultura do milho. As doenças da cultura, que estão presentes em praticamente todos os locais onde o cereal é cultivado, têm causado danos que variam de ano para ano e de região para região, em função das condições climáticas. Entre os principais danos estão as perdas de produtividade e, por consequência, da produção, da qualidade das sementes, além de perdas em palatabilidade e valores nutritivos de grãos e de forragens.

Dentre as doenças que acometem a cultura, a podridão branca das espigas tem ganhado maior notoriedade, isso porque a doença é uma das principais responsáveis por causar podridões em espigas com formação de grãos ardidos, nomenclatura que se refere a grãos que sofreram processo de podridão e apresentam, pelo menos, um quarto da sua superfície com descoloração.

O problema dos grãos ardidos está na perda da qualidade dos grãos, que apresentam reduzidos os conteúdos de carboidratos, de proteínas e de açúcares totais, além de poder conter micotoxinas, que causam ameaças à saúde humana e de animais e a desvalorização do produto, já que algumas agroindústrias estabelecem, como padrão de qualidade, a tolerância máxima de 6% de grãos ardidos em lotes comerciais (PINTO, 2004).

Agente etiológico da podridão branca das espigas, *Stenocarpella maydis*, da qual, até poucos anos atrás, havia relatos de ocorrência apenas na região sul do Brasil, tem ganhado maior importância no cenário agrícola brasileiro pela sua

difusão para áreas que, até então, não eram tidas como favoráveis ao desenvolvimento da doença.

Morello et al. (1994) constataram, na safra 93/94, no estado do Tocantins, que 15,9% das espigas de 42 cultivares híbridas de milho, apresentavam sintomas de podridão. Dentre essas, 75,5% estavam infectadas por *Fusarium* spp. e 19,1%, por *Stenocarpella* spp.

De acordo com Mário e Reis (2003), existem diferenças de comportamento entre os híbridos de milho quanto à susceptibilidade e à resistência à podridão causada pelo fungo *Stenocarpella maydis*. Diante disso, neste trabalho, objetivou-se avaliar a resistência de quatro híbridos de milho, quando inoculados com o fungo *Stenocarpella maydis*, bem como obter metodologia adequada para a inoculação do fungo.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Caracterização das áreas experimentais**

Os ensaios foram conduzidos em dois locais, na safra agrícola de 2010/2011. Em Lavras, MG, o experimento foi conduzido em área experimental do Departamento de Agricultura (DAG) da Universidade Federal de Lavras (UFLA). A cidade de Lavras está localizada na região sul de Minas Gerais, Latitude 21° 14'S e Longitude 40° 17'W, à altitude de 918,8 m. O clima da região, segundo a classificação de Köppen, é considerado mesotérmico, apresentando verões brandos e chuvosos (Cwb). A temperatura média anual é de 19,3 °C, com máximas de 27,8 °C e mínimas de 13,5 °C, e precipitação média anual de 1.411 mm, com 65% a 70% desse total concentrados de dezembro a março (DANTAS; CARVALHO; FERREIRA, 2007).

O segundo ensaio foi instalado na Fazenda Paraíso, de propriedade da empresa Sementes Biomatrix, localizada no município de Patos de Minas, MG, Latitude 18° 60'S e Longitude 46° 52'W, à altitude de 930 m. A temperatura média anual é de 22,6 °C e a precipitação média anual de 1.474 mm. O clima da região, segundo a classificação de Köppen, é considerado tropical, quente e úmido, apresentando estação seca de inverno (Cwa) (MELLO et al., 2003).

Os experimentos foram instalados na segunda quinzena do mês de outubro, em Lavras e, na segunda quinzena do mês de novembro, em Patos de Minas. As colheitas ocorreram nas primeiras quinzenas de abril e de maio, nas referidas cidades, após a maturidade fisiológica das sementes. A intensidade e a distribuição de chuvas estão apresentadas nos Gráficos 1 e 2.

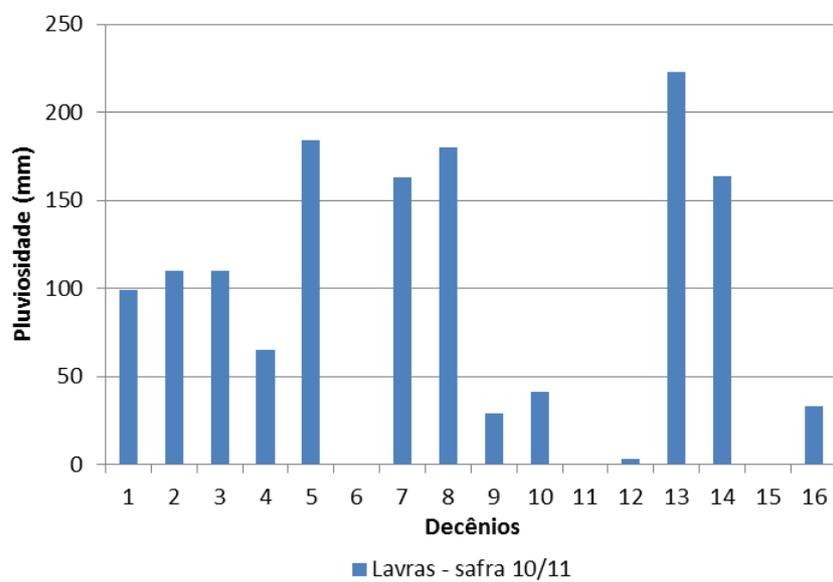


Gráfico 1 Dados médios de precipitação pluviométrica por decênio, em Lavras, MG, no período de 27/10 a 05/04

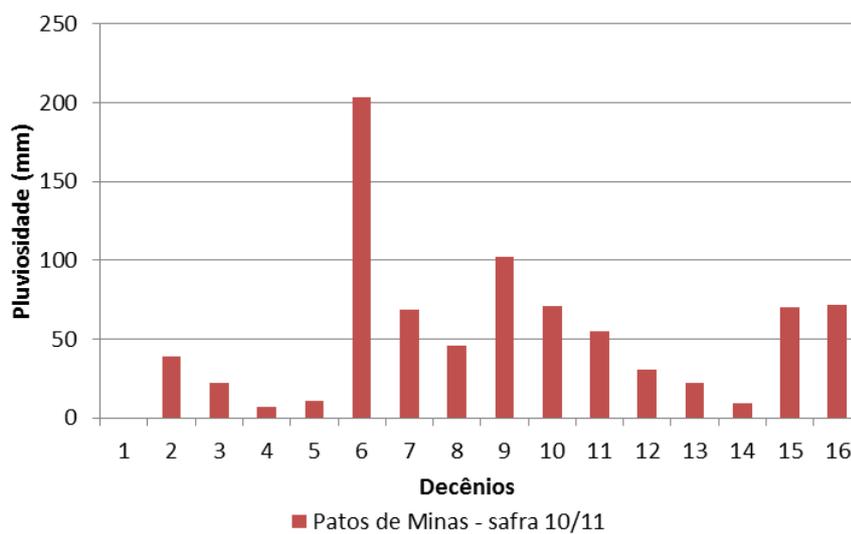


Gráfico 2 Dados médios de precipitação pluviométrica por decênio, em Patos de Minas, MG, no período de 29/11 a 07/05

## 2.2 Implantação dos experimentos

Foram testados quatro híbridos de milho provenientes de três empresas produtoras de sementes, cujos grãos são do tipo semiduro e de ciclo precoce. As sementes foram submetidas ao teste de germinação, para se verificar o perfil de cada lote e todos apresentaram germinação superior a 95%. Além disso, as sementes foram submetidas ao teste de sanidade, tendo apenas fungos *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp. e *Fusarium* spp. sido detectados.

Tabela 1 Características dos híbridos de milho utilizados nos experimentos e tolerância ao fungo *Stenocarpella maydis*<sup>1</sup>. UFLA, Lavras, MG. 2012

Híbrido	Base Genética	Empresa	Tolerância <sup>2</sup>
BM 810	HS	Biomatrix	AT
BMX 861	HS	Biomatrix	BT
2A 525 Hx	HS	Dow Agrosiences	AT
DKB 390	HS	Monsanto	BT

<sup>1</sup>Informações fornecidas pelas empresas produtoras das sementes

<sup>2</sup>AT – alta tolerância; BT – baixa tolerância

As áreas destinadas ao plantio dos experimentos foram conduzidas em sistema de plantio direto, na área em Patos de Minas, em que é comum o plantio de milho após milho, sem rotação de culturas e no sistema de plantio convencional, na área do município de Lavras, em que a cultura da mucuna havia sido adotada como cultura de inverno.

Realizadas análises de solo nas duas áreas, constatou-se não haver necessidade de se realizar a calagem. Desse modo, procedeu-se ao preparo das áreas. As parcelas foram compostas de quatro linhas de 5 m de comprimento, espaçadas 0,8 m, sendo a área útil de cada parcela as duas linhas centrais.

As sementes foram semeadas com auxílio de matracas, dispondo-se a uma profundidade média de 6 cm. Logo após, realizou-se a adubação de base utilizando-se 400 kg.ha<sup>-1</sup> da formulação 08-28-16. Vinte e um dias após a semeadura, realizou-se um desbaste, a fim de se alcançar 60.000 plantas.ha<sup>-1</sup>. Quando as plantas atingiram entre quatro e cinco folhas completamente expandidas, foi realizada a adubação de cobertura, com a aplicação de 400 kg.ha<sup>-1</sup> da formulação 30-00-10.

### 2.3 Obtenção dos isolados de *Stenocarpella maydis* e métodos de inoculação

O isolado de *Stenocarpella maydis* (LAPS 289), patogênico ao milho, designado para as inoculações, foi obtido da coleção micológica do Laboratório de Patologia de Sementes da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

De posse das placas contendo as colônias axênicas do fungo em meio BDA, foram feitas repicagens para a multiplicação, produção e esporulação do fungo em meio de aveia-ágar.

Cinco métodos de inoculação do fungo foram utilizados para infectar as plantas de milho. São eles inoculação por deposição, inoculação por injeção no colmo, inoculação por aspersão, inoculação por injeção na bainha da espiga e testemunha, em que as espigas foram submetidas à infecção natural.

Para o método de inoculação por deposição, grãos de milho pipoca foram autoclavados e, posteriormente, colonizados com o fungo. Tal colonização ocorreu ajustando-se a concentração de esporos para  $1 \times 10^5$  conídios por grão e, no momento da inoculação, cinco grãos de milho foram inseridos dentro do cartucho de cada planta.

Para os métodos de inoculação por injeção na bainha da espiga e por aspersão, a quantidade do inóculo administrada foi de 5 ml de suspensão contendo  $1 \times 10^5$  conídios.ml<sup>-1</sup>. Já para o método de inoculação por injeção no colmo, a suspensão foi aplicada contendo 1 ml, na concentração de  $5 \times 10^5$  conídios.

Para a infecção natural, utilizada como testemunha, as plantas foram pulverizadas com água pura, utilizando-se o mesmo volume do método de inoculação por aspersão.

Em todos os métodos de inoculação artificial utilizados, adotou-se a mesma concentração do inóculo,  $5 \times 10^5$  conídios de *Stenocarpella maydis* por

planta. As inoculações ocorreram dez dias após todas as plantas emitirem a floração feminina.

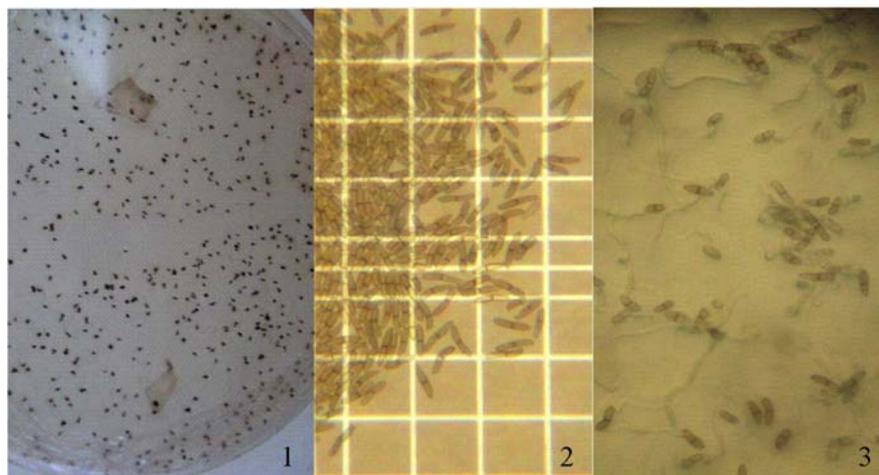


Figura 1 1. Placas contendo picnídios de *Stenocarpella maydis*. 2. Conídios do fungo em preparação para contagem em Câmara de Neubauer. 3. Germinação de conídios após a inoculação realizada em campo de produção

#### 2.4 Tratos culturais, colheita e pós-colheita

Foram utilizados os mesmos tratos culturais para os dois ensaios. Para o controle de plantas invasoras foram utilizados os herbicidas Soberan (tembotriona) e Atrazina (atrazina), nas dosagens de  $240 \text{ ml.ha}^{-1}$  e  $3,0 \text{ l.ha}^{-1}$  dos produtos comerciais que foram aplicados em pós-emergência. Além disso, apenas o controle de insetos praga foi realizado, de acordo com a necessidade da cultura em cada local de ensaio, com o produto Karate, na dosagem de  $150 \text{ ml.ha}^{-1}$ .

A colheita das espigas foi realizada após todas as plantas das parcelas estarem secas, com umidade das sementes próxima de 18%. Realizada a

colheita, as espigas foram, ainda, diariamente expostas ao sol, para o processo de secagem natural, até que as sementes das espigas atingissem 13% de umidade.

Após o processo de secagem e avaliações realizadas por meio da visualização das espigas, estas foram debulhadas manualmente. Não foi realizado o processo de classificação das sementes, visto que as inoculações interferiram diretamente no tamanho e no formato das sementes que, posteriormente, foram empregadas nos diversos testes físicos, fisiológicos e sanitários.

## **2.5 Características agronômicas avaliadas**

### **2.5.1 Incidência de *Stenocarpella maydis* em espigas**

Com base nas estruturas do fungo de *Stenocarpella* spp. (micélio branco) ou nos sintomas nos grãos, separaram-se visualmente as espigas sadias das infectadas, de todas as espigas da área útil de cada parcela. A incidência foi, então, expressa em porcentagem de espigas infectadas por parcela.

### **2.5.2 Severidade de *Stenocarpella maydis* nas espigas**

As espigas foram avaliadas e classificadas visualmente em classes de notas, por severidade da doença, recebendo notas de 0 a 3 (Tabela 2).

Tabela 2 Escala de notas atribuídas às severidades apresentadas pelas espigas.  
UFLA, Lavras, MG, 2012

Notas (n)	Severidade da doença visualizada nas espigas
0	Espigas saudáveis
1	Espigas com até 25% da superfície recoberta pelo fungo
2	Espigas que apresentam 26%-50% da superfície recoberta pelo fungo
3	Espigas com mais de 50% da superfície recoberta pelo fungo



Figura 2 Representação da escala de notas utilizada  
Fonte: Jaime (2012)

Depois de atribuída nota a cada uma das espigas, utilizou-se a fórmula proposta por McKinney (1923), visando-se obter o grau de severidade (%) por parcela.

$$SD = \frac{\sum (f \times n)}{(F \times N)}, \text{ em que:} \quad (1)$$

SD – severidade de ocorrência da doença em cada parcela;

f – frequência de cada nota da escala;

n – nota da escala atribuída a cada espiga;

F – número total de espigas avaliadas por parcela;

N – nota máxima da escala.

### **2.5.3 Produtividade de grãos**

Para determinar a produtividade de grãos por hectare, foi realizada a debulha manual das espigas das duas linhas úteis das parcelas. As espigas foram debulhadas, os grãos pesados e o teor de água dos grãos determinado. Os dados de produtividade de grãos foram corrigidos para um teor de 13% de água, expressos em  $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ .

### **2.5.4 Porcentagem de grãos ardidos**

A incidência de grãos ardidos foi determinada conforme procedimento proposto na Portaria nº11, de 12/04/1996 (BRASIL, 1996). O método consiste na separação visual e na determinação da porcentagem de grãos com sintomas de descoloração, em mais de um quarto de sua superfície total, a partir de uma amostra de 250 g de grãos por parcela.

## **2.6 Delineamento experimental e análise estatística**

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com três repetições, em esquema fatorial 4 x 5, sendo quatro híbridos de milho e cinco métodos de inoculação de *Stenocarpella maydis*, sendo quatro com inoculação artificial e um tratamento testemunha, sem inoculação.

Para as análises estatísticas, realizou-se a análise de variância individual e, posteriormente, análise conjunta, envolvendo os dois locais de produção. Os resultados de produtividade, incidência de *Stenocarpella maydis* nas espigas, severidade da doença causada pelo fungo e porcentagem de grãos ardidos foram submetidos à análise de variância. Os dados de incidência, severidade e grãos ardidos foram transformados em  $\sqrt{x + 0,5}$ , por excesso de valores iguais a zero e, portanto, por não apresentarem distribuição normal, um dos pressupostos da análise de variância. Para as médias de produtividade não houve necessidade de transformação dos dados, pelo fato de apresentarem distribuição normal dos erros. Os resultados foram comparados pelo teste de médias Scott-Knott, utilizando-se o programa computacional SAS, versão 9.0.

### **3 RESULTADOS E DISCUSSÕES**

A análise conjunta dos experimentos instalados nos municípios de Lavras e de Patos de Minas mostrou que não houve efeito significativo da interação tripla híbridos x métodos de inoculação x locais, havendo apenas interações entre híbridos e métodos para determinadas avaliações. Dessa maneira, foram consideradas as análises de variâncias individuais para cada local.

#### **3.1 Experimento de Lavras**

Na Tabela 3 estão apresentados os resumos das análises de variância individuais para incidência de *Stenocarpella maydis* em espigas, severidade da doença, produtividade e porcentagem de grãos ardidos. Pelos resultados da análise, os fatores métodos de inoculação foram isoladamente significativos para incidência e severidade. Já para a avaliação de produtividade, foram observados efeitos significativos dos fatores híbridos e métodos de inoculação. Para porcentagem de grãos ardidos, foram constatadas significâncias dos fatores isolados e da interação híbridos x métodos.

Tabela 3 Resumo da análise de variância dos resultados dos testes de incidência de *Stenocarpella maydis* em espigas (INCID.), severidade do fungo (SEV.), produtividade (PROD.) e porcentagem de grãos ardidos (G.A.), nos diferentes tratamentos de milho, do ensaio de Lavras. UFLA, Lavras, MG, 2012

FV	GL	QM			
		INCID.	SEV.	PROD.	G.A.
Híbridos (H)	3	28,81	14,26	24816874,86*	1,80*
Métodos (M)	4	3220,91*	2502,74*	3784903,87*	15,05*
H x M	12	168,88	139,11	1934471,35	1,44*
Blocos	2	624,42	392,25	9168748,06	1,53
Erro	38	104,43	85,37	1074882,10	0,50
Total	59				
Precisão Experimental		AS=93,4%	AS=93%	CV=8,2%	CV=28,7%

\*Significativo, a 5% de probabilidade, pelo Teste F

### 3.1.1 Incidência e severidade de *Stenocarpella maydis* em espigas

Pelos resultados da análise de variância dos dados transformados de incidência do fungo nas espigas e severidade da doença (Tabela 3), observa-se que os valores das variáveis respostas em questão não foram influenciados pelos diferentes germoplasmas, já que apenas métodos de inoculação tiveram efeito significativo.

Para as duas variáveis, de acordo com os resultados, independente dos híbridos utilizados, as maiores incidências do fungo e severidade da doença foram observadas quando foram realizadas inoculações por meio dos métodos injeção na bainha da espiga, seguidas pela inoculação pelo método de aspersão dos estilo-estigmas (Tabela 4).

Tabela 4 Resultados médios de incidência e severidade de *Stenocarpella maydis* encontradas em espigas de híbridos de milho, provenientes do ensaio de Lavras, inoculados com *Stenocarpella maydis* por meio de cinco metodologias de inoculação. UFLA, Lavras, MG, 2012

Métodos de inoculação	INCID.	SEV.
Testemunha	1,31 a	0,89 a
Injeção no colmo	1,31 a	1,04 a
Deposição no cartucho	1,71 a	1,22 a
Aspersão	9,43 b	6,69 b
Injeção na bainha da espiga	22,03 c	17,23 c

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade

A inoculação por meio da injeção na bainha da espiga resultou em incidência do fungo na ordem de 22,03% e severidade de 17,23%. Já para a inoculação por meio do método de aspersão foram observadas médias de incidência e de severidade iguais a 9,43% e 6,69%, respectivamente. Os demais métodos, deposição no cartucho e injeção no colmo, mostraram-se pouco eficientes, visto que apresentaram resultados muito baixos e que não diferiram significativamente entre si e do tratamento testemunha (sem inoculação).

### 3.1.2 Produtividade

Para a avaliação de produtividade, foi observado, de acordo com os resultados, que menores produtividades foram alcançadas com a utilização das inoculações por meio de injeção na espiga e aspersão (11.867 e 12.351 kg.ha<sup>-1</sup>, respectivamente), embora não tenham diferido estatisticamente do tratamento testemunha (12.555 kg.ha<sup>-1</sup>). Já com as inoculações por métodos de injeção no colmo e deposição no cartucho, as produtividades alcançaram valores superiores a 13.000 kg.ha<sup>-1</sup>, não diferindo estatisticamente entre si (Tabela 5). Embora não tenham diferido da testemunha, as sementes dos tratamentos que tiveram maior

incidência e severidade (Tabela 4) foram as que apresentaram menor produtividade.

Tabela 5 Resultados médios de produtividade de sementes de espigas de híbridos de milho, provenientes do ensaio de Lavras, inoculados com *Stenocarpella maydis* por meio de cinco metodologias de inoculação. UFLA, Lavras, MG, 2012

Métodos de inoculação	PROD. (kg.ha <sup>-1</sup> )
Injeção no colmo	13.196 a
Deposição no cartucho	13.156 a
Testemunha	12.555 b
Aspersão	12.351 b
Injeção na bainha da espiga	11.867 b

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade

Pelos resultados de produtividade obtidos neste ensaio, para o fator híbrido (Tabela 6), o híbrido BM 810 foi o que apresentou menor produtividade. Dois híbridos, DKB 390 e 2A 525, tiveram produtividades intermediárias, não apresentando diferenças significativas entre elas e o híbrido BMX 861 apresentou a maior produtividade, superior a 14.000 kg.ha<sup>-1</sup>.

Tabela 6 Resultados médios de produtividade de sementes de espigas de quatro híbridos de milho, provenientes do ensaio de Lavras, inoculados com *Stenocarpella maydis*. UFLA, Lavras, MG, 2012

Híbridos	PROD. (kg.ha <sup>-1</sup> )
BMX 861	14.297 a
2A 525 Hx	12.544 b
DKB 390	12.498 b
BM 810	11.160 c

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade

A diferença entre as produções dos híbridos, como a apresentada na Tabela 6, ocorreu em função de uma série de fatores, e não só em função dos diferentes materiais genéticos, que têm diferentes capacidades produtivas. As diferenças entre as produções também ocorreram devido às diferenças entre os locais e as condições climáticas a que esses híbridos são recomendados e as condições a que foram submetidos durante a produção, além do tipo de solo e do manejo, enfim, quaisquer tratamentos culturais diferentes daqueles considerados ótimos para a produção de cada um dos híbridos pode ter contribuído para que a média de um dos híbridos pudesse diferir da dos outros.

Apresentando ou não reais diferenças entre as produtividades de cada híbrido, pode-se observar que esses valores estão acima da produtividade média nacional, que é de 4.311 kg.ha<sup>-1</sup> (CONAB, 2012). Estes resultados corroboram os obtidos por Ribeiro et al. (2005), os quais, avaliando a incidência de podridões de grãos, obtiveram, também, produtividades potenciais superiores a 13.000 kg.ha<sup>-1</sup>.

### **3.1.3 Porcentagem de grãos ardidos**

Para porcentagem de grãos ardidos (G.A.), submetida à transformação de dados, observa-se que, para cada híbrido, foi encontrada uma alternância entre os métodos de inoculação mais eficientes. Entretanto, de maneira geral, para a maioria dos híbridos, maiores porcentagens desses grãos foram encontradas com a utilização da inoculação por injeção na bainha da espiga, seguidas pela inoculação por meio da aspersão (Tabela 7), resultados que estão de acordo com os apresentados nas porcentagens de incidência e severidade do fungo nas espigas (Tabela 4).

Para o híbrido BMX 861, apenas a inoculação por meio da injeção na bainha da espiga apresentou diferença significativa. Para o 2A 525 Hx,

deposição no cartucho, aspersão e injeção na bainha da espiga não diferiram estatisticamente entre si e apresentaram maiores porcentagens de grãos ardidos. Para o DKB 390, aspersão e injeção na bainha foram os métodos que resultaram em maiores porcentagens de grãos ardidos. Já para o híbrido BM 810, os melhores resultados da inoculação foram encontrados com a utilização da inoculação por aspersão, seguida pela inoculação por meio da injeção na bainha da espiga.

Tabela 7 Resultados médios de porcentagem de grãos ardidos de espigas de quatro híbridos de milho, provenientes do ensaio de Lavras, inoculados com *Stenocarpella maydis*, por meio de diferentes metodologias de inoculação. UFLA, Lavras, MG, 2012

Métodos de inoculação	Híbridos			
	BM 810	BMX 861	2A 525 Hx	DKB 390
Testemunha	3,00 a A	4,00 a A	1,33 a A	3,00 a A
Injeção no colmo	1,00 a A	2,00 a A	0,33 a A	3,67 a A
Deposição no cartucho	1,33 a A	4,00 a A	7,33 b A	3,67 a A
Aspersão	19,67 c B	5,00 a A	6,33 b A	18,00 b B
Injeção na bainha da espiga	8,00 b A	19,33 b B	13,00 b A	24,00 b B

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade

Embora a inoculação por aspersão seja bastante influenciada pelas condições ambientais (BENSCH; STADEN; RIJKENBERG, 1992), podendo-se citar, principalmente, a ocorrência de chuvas logo após a inoculação do fungo nas plantas e possa acarretar problemas com seu uso em programas de melhoramento, este método, mais do que a injeção na bainha da espiga,

tratamento que mais resultou em grãos ardidos para os outros híbridos, pareceu fornecer bons resultados para a produção de grãos ardidos para o híbrido em questão, estando de acordo com os resultados encontrados por Klapproth e Hawk (1991), que recomendaram tal metodologia.

A justificativa, no entanto, para que apenas o BM 810, único dos quatro híbridos testados, apresente a inoculação por aspersão como a mais eficiente em resultar em grãos ardidos, pode ser devido ao grau de empalhamento deste híbrido, já que, segundo Mário (1998), este método permite melhor avaliação do efeito de proteção das brácteas, além da resistência fisiológica intrínseca.

### 3.2 Experimento de Patos de Minas

Na Tabela 8 estão apresentados os resumos das análises de variância individuais para incidência de *Stenocarpella maydis* em espigas, severidade da doença, produtividade e porcentagem de grãos ardidos.

Tabela 8 Resumo da análise de variância dos resultados dos testes de incidência de *Stenocarpella maydis* em espigas (INCID.), severidade do fungo (SEV.), produtividade (PROD.) e porcentagem de grãos ardidos (G.A.), nos diferentes tratamentos de milho, do ensaio de Patos de Minas. UFLA, Lavras, MG, 2012

FV	GL	QM			
		INCID.	SEV.	PROD.	G.A.
Híbridos (H)	3	276,28	240,72	2,19	386,42*
Métodos (M)	4	3760,82*	3014,65*	2,43*	2967,40*
H x M	12	109,27	84,50	5,37	115,70
Blocos	2	7,30	5,76	9,86	105,85
Erro	38	127,32	96,32	8,37	83,42
Total	59				
Precisão experimental		AS=86,1%	AS=86,0%	CV=11,8%	CV=31,5%

\* Significativo, a 5% de probabilidade, pelo teste de F

Pelos resultados da análise, os fatores métodos de inoculação foram, isoladamente, significativos para incidência, severidade e produtividade. Já para a avaliação da porcentagem de grãos ardidos, foram observados efeitos significativos dos fatores híbridos e métodos de inoculação.

### **3.2.1 Incidência e severidade de *Stenocarpella maydis* em espigas**

Pelos resultados da análise de variância dos dados transformados de incidência do fungo nas espigas e severidade da doença (Tabela 8), observa-se que os valores das variáveis respostas em questão não foram influenciados pelos diferentes híbridos, já que apenas métodos de inoculação apresentaram efeito significativo.

Para as duas variáveis, de acordo com os resultados, independente dos híbridos utilizados, as maiores incidências do fungo e severidade da doença foram observadas quando foram realizadas inoculações por meio dos métodos injeção na bainha da espiga e aspersão, que não diferiram estatisticamente entre si, seguidas pelo método de deposição no cartucho, que foi superior à testemunha e à inoculação por injeção no colmo, que não diferiram estatisticamente entre si (Tabela 9).

Tabela 9 Resultados médios de incidência e severidade de *Stenocarpella maydis* encontradas em espigas de híbridos de milho, provenientes do ensaio de Patos de Minas, inoculados com *Stenocarpella maydis* por meio de cinco metodologias de inoculação. UFLA, Lavras, MG, 2012

Métodos de inoculação	INCID.	SEV.
Testemunha	2,53 a	2,17 a
Injeção no colmo	2,38 a	1,29 a
Deposição no cartucho	6,11 b	4,09 b
Aspersão	18,50 c	14,27 c
Injeção na bainha da espiga	27,28 c	20,91 c

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade

A inoculação por meio da injeção na bainha da espiga resultou em incidência e severidade iguais a 27,28% e 20,91%, respectivamente. Apresentando, também, incidência e severidade da doença bastante elevadas, 18,50% e 14,27%, respectivamente, a inoculação pelo método de aspersão apresentou resultados que não diferiram com os apresentados pela inoculação através da injeção na bainha da espiga.

Já para o método deposição no cartucho, as incidências e a severidade observadas foram iguais a 6,11% e 4,09%, suficientes apenas para distinguir estatisticamente das inoculações pelos métodos de injeção no colmo e do tratamento testemunha.

As inoculações por meio da injeção na bainha da espiga e aspersão no município de Patos de Minas apresentaram resultados de incidência e severidade mais altos do que os apresentados no ensaio de Lavras, que teve as porcentagens de incidência e severidade de 22,03% e 17,23%, para a inoculação por meio da injeção na bainha da espiga e de 9,43% e 6,69%, para a inoculação pelo método de aspersão.

Tal fato se deve ao histórico de plantio nas áreas utilizadas e, principalmente, ao sistema de plantio utilizado. Enquanto, na área de plantio em Lavras, realizou-se a rotação de culturas ao longo dos anos e implantou-se o plantio convencional em cada uma das safras, no ensaio do município de Patos de Minas, a área se mostrou mais favorável ao desenvolvimento da podridão branca das espigas, visto que este local tem um histórico de plantio de milho em sucessão ao milho e sob um sistema de plantio direto, ou seja, não há rotação de culturas e a palhada permanece sob o solo, tendo sua decomposição dificultada pelo sistema de plantio empregado.

De acordo com Casa (2000), Casa et al. (2000), Flett, McLaren e Wehner (1998), Flett e Wehner (1991), Reis, Casa e Bresolin (2004) e Trento, Irgang e Reis (2002), a monocultura e o plantio direto favorecem a sobrevivência deste fungo no campo, uma vez que a palhada promove a manutenção do inóculo no local, inóculo este que pode sobreviver saprofiticamente nos restos culturais, de acordo com Casa (2000), por até 29 meses, colonizando tecidos e apto a infectar as próximas safras da cultura.

Além disso, segundo Del Rio (1990), as altas incidências e severidade dos fungos, tais como as encontradas neste ensaio, se devem ao aumento da densidade de inóculo no local de condução do experimento. Após as sucessivas safras de milho, a maior pressão do inóculo na área contribuiu para que alta incidência e severidade da doença fossem encontradas.

### **3.2.2 Produtividade**

Para a avaliação de produtividade foi observado que, embora o fator métodos de inoculação tenha efeito significativo (Tabela 8), de acordo com os resultados, não se obtiveram diferenças significativas entre as médias das produtividades resultantes de cada método de inoculação (Tabela 10). Esses

resultados são semelhantes aos obtidos por Thompson, Villena e Maxwell (1971), que apontam a podridão da espiga como um fator redutor de qualidade e não tanto de quantidade.

As produtividades alcançadas com as inoculações por meio dos diferentes métodos de inoculação tiveram médias entre 7.080 e 8.360 kg.ha<sup>-1</sup>. Os valores de produtividade, assim como os de Lavras, também estão acima da produtividade média nacional que é de 4.311 kg.ha<sup>-1</sup> (CONAB, 2012). Entretanto, comparativamente, a produção alcançada no ensaio de Lavras foi superior à alcançada no ensaio de Patos de Minas. Enquanto as produtividades alcançadas em Patos ficaram entre 7,0 e 8,3 toneladas por hectare, dependendo dos métodos de inoculação utilizados, as produtividades em Lavras ficaram entre 11,8 e 13,1 toneladas por hectare.

Tabela 10 Resultados médios de produtividade de sementes de espigas de híbridos de milho, provenientes do ensaio de Patos de Minas, inoculados com *Stenocarpella maydis* por meio de cinco diferentes metodologias. UFLA, Lavras, MG, 2012

Métodos de inoculação	PROD. (kg.ha <sup>-1</sup> )
Testemunha	8.353 a
Injeção no colmo	7.811 a
Aspersão	7.741 a
Deposição no cartucho	7.651 a
Injeção na bainha da espiga	7.089 a

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade

Diversos fatores podem ter contribuído para que a produção alcançada no ensaio de Lavras fosse maior do que a alcançada em Patos de Minas. Dentre eles, podem-se destacar os diferentes solos dos dois locais de produção, tanto em relação às características físicas quanto às características químicas; a ocorrência de quantidades satisfatórias de chuvas em períodos críticos que, de acordo com

Bergamaschi et al. (2004), vão desde o período de pré-florescimento até o enchimento dos grãos e em função da redução da resposta às adubações nos cultivos sucessivos de monocultura de milho que, segundo Collier et al. (2008), mostra a necessidade de um manejo mais adequado de fertilizantes e corretivos. Além disso, há também que se ressaltar que, na área do experimento de Lavras, havia sido plantada, em rotação de culturas com o milho, a cultura da mucuna, adubo verde que, segundo Carvalho et al. (2004), além de melhorar as condições físicas, químicas e biológicas, apresenta como consequência o aumento da produtividade de milho na sucessão das culturas.

### **3.2.3 Porcentagem de grãos ardidos**

Para porcentagem de grãos ardidos, submetida à transformação de dados, foram encontrados efeitos significativos dos fatores híbridos e métodos de inoculação, de maneira isolada.

Para o fator híbrido, neste ensaio, maiores porcentagens de grãos ardidos foram observadas nos dois híbridos considerados de baixa tolerância às podridões da espiga, que são os híbridos DKB 390 e BMX 861, que não diferiram entre si e apresentaram porcentagem de grãos ardidos iguais a 14,17% e 14,57% (Tabela 11). Para os demais híbridos, BM 810 e 2A 525 Hx, considerados de alta tolerância às podridões da espiga, as porcentagens de grãos ardidos foram significativamente inferiores (10,03% e 6,70%), não diferindo estatisticamente entre si.

Tabela 11 Resultados médios de porcentagem de grãos ardidos de espigas de quatro híbridos de milho, provenientes do ensaio de Patos de Minas, inoculados com *Stenocarpella maydis*. UFLA, Lavras, MG, 2012

Híbridos	G.A. (%)
2A 525 Hx	6,70 a
BM 810	10,03 a
DKB 390	14,17 b
BMX 861	14,57 b

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade

Para o fator métodos de inoculação (Tabela 12), aspersão e injeção na bainha da espiga foram os métodos de inoculação que apresentaram maiores médias de grãos ardidos, encontrando-se 21,96% e 22,76%, para os respectivos métodos. Estes resultados são semelhantes aos obtidos para incidência e severidade da doença nas espigas provenientes da produção em Patos de Minas, que se mostraram mais sensíveis às inoculações, resultando também em maiores porcentagens de grãos ardidos.

Tabela 12 Resultados médios de porcentagem de grãos ardidos de espigas de híbridos de milho, provenientes do ensaio de Patos de Minas, inoculados com *Stenocarpella maydis*, por meio de diferentes metodologias. UFLA, Lavras, MG, 2012

Métodos de inoculação	G.A. (%)
Testemunha	2,23 a
Injeção no colmo	4,12 a
Cartucho	5,77 a
Aspersão	21,96 b
Injeção na espiga	22,76 b

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade

#### 4 CONCLUSÕES

Não houve diferenças de resistência dos híbridos para as determinações de incidência e severidade de *Stenocarpella maydis* nas espigas. Já para a porcentagem de grãos ardidos, observaram-se diferenças quanto a essa resistência.

Maiores valores de incidência, severidade e porcentagem de grãos ardidos e menores valores de produtividade foram obtidos com as inoculações por meio de injeção na bainha da espiga e aspersão.

## REFERÊNCIAS

- BENSCH, M. J.; STADEN, J. van; RIJKENBERG, F. H. J. Time and site of inoculation of maize for optimum infection of ears by *Stenocarpella maydis*. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 136, n. 12, p. 265-269, Dec. 1992.
- BERGAMASCHI, H. et al. Distribuição hídrica no período crítico do milho e produção de grãos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 9, p. 831-839, set. 2004.
- BRASIL. Portaria nº 11, de 12 de abril de 1996. Estabelece critérios complementares para classificação do milho. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, n. 72, p. 3, 13 abr. 1996. Seção 1.
- CARVALHO, M. A. C. de et al. Soja em sucessão a adubos verdes no sistema de plantio direto e convencional em solo de Cerrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 11, p. 1141-1148, nov. 2004.
- CASA, R. T. **Sobrevivência de *Stenocarpella maydis* e *Stenocarpella macrospora* em restos culturais de milho**. 2000. 145 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2000.
- CASA, R. T. et al. Prevenção e controle de doenças na cultura do milho. In: SANDINI, I. A.; FANCELLI, A. L. (Ed.). **Milho: estratégias de manejo para a região sul**. Guarapuava: Fundação Agrária de Pesquisa Agropecuária, 2000. p. 39-58.
- COLLIER, L. S. et al. Adubação fosfatada no sulco e em faixa sob palhada de leguminosa e produtividade do milho em plantio direto no Tocantins. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 55, n. 2, p. 109-116, 2008.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento de safra brasileira: grãos, quarto levantamento, janeiro 2012**. Brasília, 2012. 38 p.
- DANTAS, A. A. A.; CARVALHO, L. G.; FERREIRA, E. Classificação e tendências climáticas em Lavras, MG. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 6, p. 1862-1866, nov./dez. 2007.
- DEL RIO, L. Maiz muerto en Honduras provocado pôr el complejo Diplodia Y Fusarium. **Manejo Integrado de Plagas**, Turrialba, v. 18, p. 42-53, 1990.

FLETT, B. C.; MCLAREN, N. W.; WEHNER, F. C. Incidence of ear rot pathogens under alternating corn tillage practices. **Plant Disease**, Quebec, v. 82, n. 7, p. 782-784, 1998.

FLETT, B. C.; WEHNER, F. C. Incidence of *Stenocarpella* and *Fusarium* cob rots in monoculture maize under different tillage systems. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 133, n. 4, p. 327-333, Dec. 1991.

KLAPPROTH, J. C.; HAWK, J. A. Evaluation of four inoculation techniques for infecting corn ears with *Stenocarpella maydis*. **Plant Disease**, Quebec, v. 75, n. 10, p. 1057-1060, Oct. 1991.

MÁRIO, J. L. **Comparação de métodos de inoculação de *Diplodia maydis* em espigas de milho e reação de híbridos em condições de infecção natural de *Diplodia macrospora***. 1998. 80 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Passo Fundo, Passo Fundo, 1998.

MÁRIO, J. L.; REIS, E. M. Reação de híbridos de milho à podridão branca da espiga. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 1, p. 155-158, jan./mar. 2003.

MCKINNEY, H. H. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal Agricultural Research**, Washington, v. 26, n. 5, p. 195-219, Nov. 1923.

MELLO, C. R. de et al. Modelos matemáticos para predição de chuva de projeto para regiões do Estado de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 7, n. 1, p. 121-128, 2003.

MORELLO, C. L. et al. Fungos associados à podridões em espigas de milho, ciclo normal, no estado do Tocantins. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 19, n. 2, p. 272, mar./abr. 1994.

PINTO, N. F. J. de A. Controle químico de doenças foliares em milho. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 3, n. 1, p. 134-138, 2004.

REIS, E. M.; CASA, R. T.; BRESOLIN, A. C. R. **Manual de diagnose e controle de doenças do milho**. 2. ed. Lages: Graphel, 2004. 144 p.

RIBEIRO, N. A. et al. Incidência de podridões do colmo, grãos ardidos e produtividade de grãos de genótipos de milho em diferentes sistemas de manejo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 5, p. 1003-1009, set./out. 2005.

THOMPSON, D. L.; VILLENA, W. L.; MAXWELL, J. D. Correlation between *Diplodia* stalk and ear rot of corn. **Plant Disease Reporter**, Washington, v. 55, p. 158-162, 1971.

TRENTO, S. M.; IRGANG, H. H.; REIS, E. M. Efeito da rotação de culturas, da monocultura e da densidade de plantas na incidência de grãos ardidos em milho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 3, p. 609-613, maio/jun. 2002.

### **CAPÍTULO 3**

**EFEITO NA QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE MILHO  
ORIUNDAS DE PLANTAS INOCULADAS COM O FUNGO *Stenocarpella  
maydis*, ANTES E APÓS O ARMAZENAMENTO**

## RESUMO

Sementes de milho, a exemplo do que ocorre com outras culturas, podem transportar e transmitir inúmeros patógenos, dentre eles, *Stenocarpella maydis*, agente etiológico da doença conhecida como podridão branca das espigas do milho. A resistência ao fungo é herdada pela ação gênica aditiva. Para verificar a incorporação de genes resistentes à podridão da espiga, se faz necessária a utilização de uma metodologia eficaz de inoculação artificial do fungo. Os objetivos, neste trabalho, foram, portanto, avaliar as qualidades física, fisiológica e sanitária das sementes provenientes de plantas inoculadas com o fungo, comparando-se os métodos de inoculação de *Stenocarpella maydis* que resultaram em perda de qualidade. Para isso, sementes provenientes de quatro híbridos, inoculados por meio de cinco metodologias de inoculação do fungo, foram submetidas a avaliações primárias de incidência e severidade da doença, produtividade, porcentagem de grãos ardidos e peso de mil sementes. Em seguida, parte das sementes foi avaliada pelos testes de germinação, envelhecimento acelerado, emergência em bandeja, teste de frio e teste de sanidade de sementes, e parte das sementes foi armazenada por um período de doze meses, em condições naturais de armazenamento. Pelos resultados obtidos, verificou-se que não houve diferenças de resistência dos híbridos para as determinações de incidência e severidade de *Stenocarpella maydis* nas espigas. Já para a porcentagem de grãos ardidos, observaram-se diferenças quanto a essa resistência. Maiores valores de incidência, severidade e porcentagem de grãos ardidos e menores valores de produtividade foram obtidos com as inoculações através de injeção na bainha da espiga e aspersão. O peso de mil sementes foi reduzido quando feita a inoculação por meio da injeção na bainha da espiga. Houve redução da qualidade fisiológica das sementes oriundas das plantas inoculadas com *Stenocarpella maydis*, pelos métodos de aspersão e injeção na bainha, tanto antes quanto após o armazenamento. Para a qualidade sanitária, maiores incidências de *Stenocarpella maydis* foram observadas por meio das inoculações de aspersão e injeção na bainha da espiga, e o fungo manteve-se após o armazenamento.

Palavras-chave: Métodos de inoculação. Podridão de diplodia. Qualidade sanitária.

## ABSTRACT

Corn seeds, in the same way of what occurs with other crops, can carry and transmit a number of pathogens, among them, *Stenocarpella maydis*, etiologic agent of the disease known as white ear rot. The resistance to the fungus is inherited through the additive gene action. For verification of the incorporation of ear rot-resistant genes, the use of an effective methodology of artificial inoculation of the fungus becomes necessary. The objectives in this work were, therefore, to evaluate the physical, physiological and sanitary qualities of the seeds coming from plants inoculated with the fungus, comparing the methods of inoculation of *Stenocarpella maydis* which resulted into loss of quality. For that purpose, seeds coming from four hybrids, inoculated through five methodologies of inoculation of the fungus were submitted to primary evaluations of incidence and severity of the disease, yield, percentage of discolored grains and one-thousand seeds' weight. Next, a part of the seeds was evaluated by the tests of germination, accelerated aging, tray emergence, test of cold and test of sanity of seeds and a part of the seeds were stored for a twelve-month period under natural storage conditions. From the results obtained, it was found that there were no differences of resistance of the hybrids for the determinations of incidence and severity of *Stenocarpella maydis* in the ears. But for the percentage of discolored grains, differences as to that resistance were found. Higher values of incidence, severity and percentage of discolored grains and lower values of yield were obtained with the inoculations through ear sheath injections and spray. The one-thousand seed weight was reduced when the inoculation was done by means of the ear sheath injection. There was a reduction of the physiological quality of the seeds coming from the plants inoculated with *Stenocarpella maydis* through the methods of spray and ear sheath injection both before and after storage. For the sanitary quality, increased incidences of *Stenocarpella maydis* were found by means of the spray and ear sheath injection inoculations and the fungus remained after storage.

Keywords: Methods of inoculation. Diplodia rot. Sanitary quality.

## 1 INTRODUÇÃO

A podridão de diplodia, causada por *Stenocarpella maydis*, juntamente com a podridão do colmo, é considerada uma das doenças mais importantes dessa cultura. A ocorrência é variada e depende das precipitações pluviométricas e da temperatura. Além disso, ocorre em todas as regiões de cultivo, devido à eficiente transmissão desses patógenos pelas sementes e por ocorrer nas regiões produtoras de sementes.

A podridão de diplodia pode causar redução na qualidade das sementes e grãos e, ainda, severa redução de produtividade. Os sintomas na espiga, quando a infecção ocorre logo após a fecundação, iniciam-se na sua base. As brácteas da espiga tornam-se despigmentadas e de coloração parda. Quando a infecção ocorre duas semanas após a polinização, toda a espiga pode tornar-se podre, apresentando coloração pardo-cinzenta a esbranquiçada, enrugada e leve, com as palhas internas fortemente aderidas umas às outras ou aos grãos, devido ao crescimento do micélio do fungo (SHURTLEFF, 1980).

A doença causada por *Stenocarpella maydis* apresenta, ainda, como um dos danos mais importantes, o efeito negativo sobre a germinação de sementes, podendo matar o embrião ou comprometer o vigor das plantas emergidas. De acordo com Duarte et al. (2009), alguns isolados de *S. maydis* induzem, ainda, à viviparidade, ou seja, à germinação prematura das sementes ainda nas espigas.

A semente desempenha papel fundamental na transmissão e na disseminação das espécies de *Stenocarpella* spp. Além de ser considerada um dos principais veículos de disseminação deste patógeno, a semente de milho, portadora de micélio dormente, é responsável pela introdução dos fungos em novas áreas de cultivo (CARVALHO et al., 2004), mesmo distante de seu local de produção, constituindo, assim, importante fonte de inóculo primário para a

podridão de sementes, morte de plântulas e vigor de plantas infectadas sobreviventes, resultando em redução significativa do estande.

Não tendo sido encontrados trabalhos na literatura com respeito ao efeito na qualidade fisiológica de sementes de milho oriundas de plantas inoculadas com *Stenocarpella maydis*, este trabalho foi realizado com os objetivos de avaliar a qualidade física, fisiológica e sanitária das sementes provenientes de plantas inoculadas com o fungo, comparando-se os métodos de inoculação de *Stenocarpella maydis* que resultaram em perda de qualidade.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Caracterização das áreas experimentais**

O ensaio foi conduzido na safra agrícola de 2010/2011, em Lavras, MG, em área experimental do Departamento de Agricultura (DAG) e no Laboratório de Análises de Sementes (LAS) da Universidade Federal de Lavras (UFLA). A cidade de Lavras está localizada na região sul de Minas Gerais, Latitude 21° 14'S e Longitude 40° 17'W e à altitude de 918,8 m. O clima da região, segundo a classificação de Köppen, é mesotérmico, apresentando verões brandos e chuvosos (Cwb). A temperatura média anual é de 19,3 °C, com máxima de 27,8 °C e mínima de 13,5 °C, e precipitação média anual de 1.411 mm, com 65% a 70% desse total concentrados de dezembro a março (DANTAS; CARVALHO; FERREIRA, 2007).

Os dados sobre intensidade e distribuição de chuvas são apresentados n Gráfico 3.

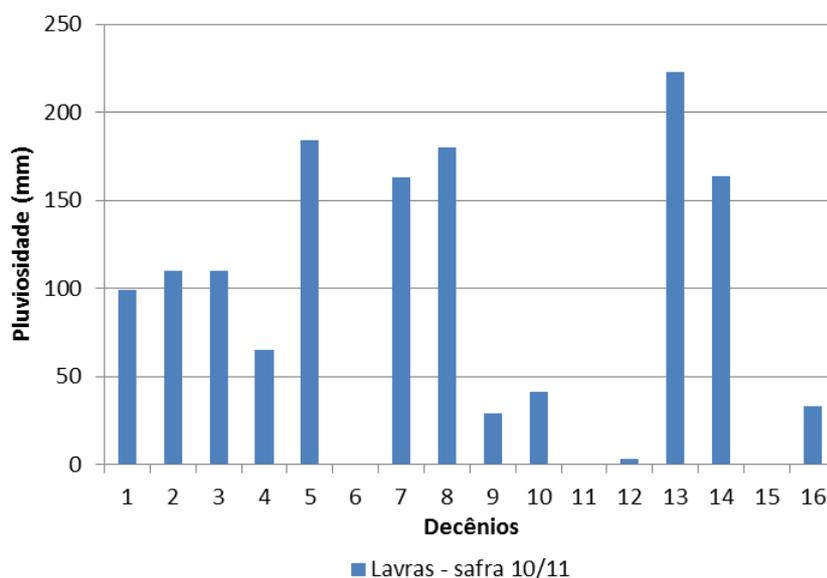


Gráfico 3 Dados médios de precipitação pluviométrica por decênio, em Lavras, MG, no período de 27/10 a 05/04

O experimento foi instalado na segunda quinzena do mês de outubro e a colheita ocorreu na primeira quinzena de abril, após a maturidade fisiológica das sementes.

## 2.2 Implantação do experimento

Foram testados quatro híbridos de milho provenientes de três empresas produtoras de sementes, cujos grãos são do tipo semiduro e de ciclo precoce. As sementes foram submetidas ao teste de germinação, para se verificar o perfil de cada lote e todos apresentaram germinação superior a 95%. Além disso, as sementes foram submetidas ao teste de sanidade, tendo apenas os fungos *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp. e *Fusarium* spp. sido detectados.

Tabela 13 Características dos híbridos de milho utilizados no experimento e tolerância ao fungo *Stenocarpella maydis*<sup>1</sup>. UFLA, Lavras, MG, 2012

Híbrido	Base Genética	Empresa	Tolerância <sup>2</sup>
BM 810	HS	Biomatrix	AT
BMX 861	HS	Biomatrix	BT
2A 525 Hx	HS	Dow Agrosciences	AT
DKB 390	HS	Monsanto	BT

<sup>1</sup>Informações fornecidas pelas empresas produtoras das sementes

<sup>2</sup>AT – alta tolerância; BT – baixa tolerância

A área destinada ao plantio do experimento foi conduzida no sistema de plantio convencional, em que a cultura da mucuna havia sido adotada como cultura de inverno.

Realizada a análise de solo na área, constatou-se não haver necessidade de se realizar a calagem. Desse modo, procedeu-se ao preparo da área para a instalação do experimento.

As parcelas foram compostas de quatro linhas de 5 m de comprimento, espaçadas 0,8 m, sendo a área útil de cada parcela composta pelas duas linhas centrais.

As sementes foram semeadas com auxílio de matracas, dispondo-se a uma profundidade média de 6 cm. Logo após, realizou-se a adubação de base, utilizando-se 400 kg.ha<sup>-1</sup> da formulação 08-28-16. Vinte e um dias após a semeadura, realizou-se um desbaste, a fim de se alcançar 60.000 plantas.ha<sup>-1</sup>. Quando as plantas atingiram entre quatro e cinco folhas completamente expandidas, foi realizada a adubação de cobertura, com a aplicação de 400 kg.ha<sup>-1</sup> da formulação 30-00-10.

### 2.3 Obtenção dos isolados de *Stenocarpella maydis* e métodos de inoculação

O isolado de *Stenocarpella maydis* (CML 698), patogênico ao milho, designado para as inoculações, foi obtido da coleção micológica do Laboratório de Patologia de Sementes da UFLA.

De posse das placas contendo as colônias axênicas do fungo em meio BDA, foram feitas repicagens para multiplicação, produção e esporulação do fungo em meio de aveia-ágar.

Cinco métodos de inoculação do fungo foram utilizados para infectar as plantas de milho, sendo inoculação por deposição, inoculação por injeção no colmo, inoculação por aspersão, inoculação por injeção na bainha da espiga e a testemunha, em que as espigas foram submetidas à infecção natural.

Para o método de inoculação por deposição, grãos de milho pipoca foram autoclavados e, posteriormente, colonizados com o fungo. Tal colonização ocorreu ajustando-se a concentração de esporos para  $1 \times 10^5$  conídios por grão e, no momento da inoculação, cinco grãos de milho foram inseridos dentro do cartucho de cada planta.

Para os métodos de inoculação por injeção na bainha da espiga e por aspersão, a quantidade do inóculo administrada foi de 5 ml de suspensão contendo  $1 \times 10^5$  conídios.ml<sup>-1</sup>. Já para o método de inoculação por injeção no colmo, a suspensão foi aplicada contendo 1 ml, na concentração de  $5 \times 10^5$  conídios.

Para a infecção natural, utilizada como testemunha, as plantas foram pulverizadas com água pura, utilizando-se o mesmo volume do método de inoculação por aspersão.

Em todos os métodos de inoculação artificial utilizados, adotou-se a mesma concentração do inóculo,  $5 \times 10^5$  conídios de *Stenocarpella maydis* por

planta. As inoculações ocorreram dez dias após todas as plantas emitirem a floração feminina.

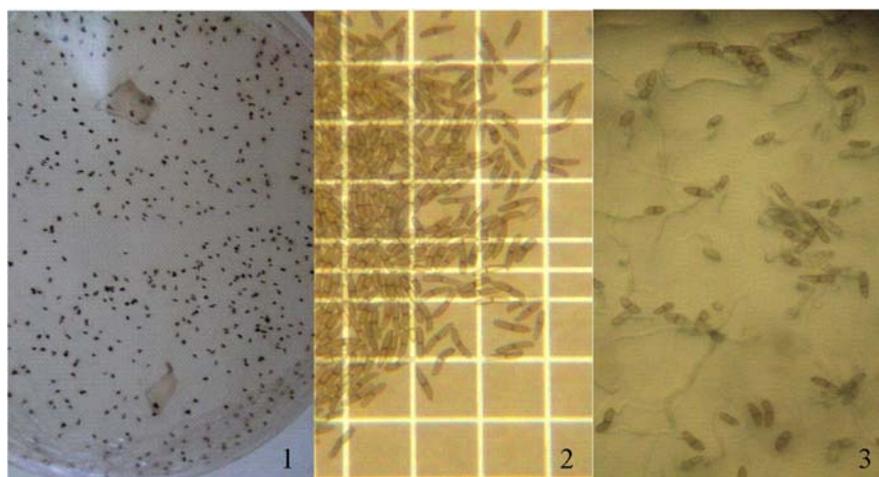


Figura 3 1.Placas contendo picnídios de *Stenocarpella maydis*. 2.Conídios do fungo em preparação para contagem em Câmara de Neubauer. 3.Germinação de conídios após a inoculação realizada em campo de produção

#### 2.4 Tratos culturais, colheita e pós-colheita

Para o controle de plantas invasoras foram utilizados os herbicidas Soberan (tembotriona) e Atrazina (atrazina), nas dosagens de  $240 \text{ ml.ha}^{-1}$  e  $3,0 \text{ l.ha}^{-1}$  dos produtos comerciais que foram aplicados em pós-emergência. Além disso, apenas o controle de insetos praga foi realizado, de acordo com a necessidade da cultura em cada local de ensaio, com o produto Karate, na dosagem de  $150 \text{ ml.ha}^{-1}$ .

A colheita das espigas foi realizada após todas as plantas das parcelas estarem secas, com umidade das sementes próximas de 18%. Realizada a

colheita, as espigas foram, ainda, diariamente expostas ao sol, para o processo de secagem natural, até que as sementes das espigas atingissem 13% de umidade.

Após o processo de secagem e avaliações realizadas por meio da visualização das espigas, estas foram debulhadas manualmente. Não foi realizado o processo de classificação das sementes, visto que as inoculações interferiram diretamente no tamanho e no formato das sementes que, posteriormente, foram empregadas nos diversos testes físicos, fisiológicos e sanitários.

## **2.5 Características agronômicas avaliadas**

### **2.5.1 Avaliações primárias**

#### **2.5.1.1 Incidência de *Stenocarpella maydis* em espigas**

Com base nas estruturas do fungo de *Stenocarpella* spp. (micélio branco) ou nos sintomas nos grãos, separaram-se visualmente as espigas sadias das infectadas, de todas as espigas da área útil de cada parcela. A incidência foi, então, expressa em porcentagem de espigas infectadas por parcela.

#### **2.5.1.2 Severidade de *Stenocarpella maydis* nas espigas**

As espigas foram avaliadas e classificadas visualmente em classes de notas, por severidade da doença, recebendo notas de 0 a 3 (Tabela 14).

Tabela 14 Escala de notas atribuídas às severidades apresentadas pelas espigas.  
UFLA, Lavras, MG, 2012

Notas (n)	Severidade da doença visualizada nas espigas
0	Espigas saudáveis
1	Espigas com até 25% da superfície recobertas pelo fungo
2	Espigas que apresentam 26%-50% da superfície recobertas pelo fungo
3	Espigas com mais de 50% da superfície recobertas pelo fungo



Figura 4 Representação da escala de notas utilizada  
Fonte: Elaborado pelo autor, em 2012

Depois de atribuída nota a cada uma das espigas, utilizou-se a fórmula proposta por McKinney (1923), para se obter o grau de severidade (%) por parcela.

$$SD = \frac{\sum (f \times n)}{(F \times N)}, \text{ em que} \quad (1)$$

SD – severidade de ocorrência da doença em cada parcela;

f – frequência de cada nota da escala;

n – nota da escala atribuída a cada espiga;

F – número total de espigas avaliadas por parcela;

N – nota máxima da escala

### **2.5.1.3 Produtividade de grãos**

Para a determinação da produtividade de grãos por hectare, foi realizada a debulha manual das espigas das duas linhas úteis das parcelas. Depois de debulhadas, os grãos pesados e o teor de água dos grãos determinados. Os dados de produtividade de grãos foram corrigidos para um teor de 13% de água, expressos em  $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ .

### **2.5.1.4 Porcentagem de grãos ardidos**

A incidência de grãos ardidos foi determinada conforme procedimento proposto na Portaria nº11, de 12/04/1996 (BRASIL, 1996). O método consiste na separação visual e na determinação da porcentagem de grãos com sintomas de descoloração, em mais de um quarto de sua superfície total, a partir de uma amostra de 250 g de grãos por parcela.

### **2.5.1.5 Peso de mil sementes**

O peso de mil sementes foi determinado conforme metodologia descrita por Brasil (2009), em que 8 repetições de 100 sementes foram pesadas em

balança analítica e calculados o desvio padrão e o coeficiente de variação, sendo os resultados expressos em gramas.

## **2.5.2 Avaliações da qualidade fisiológica e de sanidade de sementes**

### **2.5.2.1 Teste de germinação**

Foram utilizadas 300 sementes por tratamento, divididas em 6 repetições de 50 sementes (duas repetições por parcela do campo), em rolo de papel germitest, umedecido com água na proporção de 2,5 vezes o peso do papel. As sementes foram mantidas em germinador à temperatura de 25°C, por sete dias, quando foi realizada a avaliação segundo as Regras para Análises de Sementes (RAS) (BRASIL, 2009). Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais.

### **2.5.2.2 Teste de envelhecimento acelerado**

Foi conduzido em minicâmara, sendo colocadas 6 subamostras de 50 sementes sobre uma tela plástica, cobrindo toda a sua superfície em camada única, a qual foi colocada em uma caixa plástica modificada, contendo 40 ml de água destilada. A caixa foi tampada e colocada em câmara BOD, regulada à temperatura de 42 °C, por 96 horas. Após este período, as sementes foram semeadas em substrato papel germitest e mantidas em germinador regulado a 25 °C. Aos quatro dias após a semeadura, foi avaliado o percentual de plântulas normais germinadas.

### **2.5.2.3 Emergência em bandejas**

A semeadura foi realizada em bandejas plásticas, contendo como substrato areia + solo, na proporção de 2:1. Foram utilizadas seis repetições de 50 sementes por tratamento. Após a semeadura, as bandejas foram mantidas em câmara de crescimento vegetal à temperatura de 25 °C, em regime alternado de luz e escuro (12 horas), com irrigação diária. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais emergidas aos 14 dias.

### **2.5.2.4 Teste de frio**

A semeadura foi realizada em bandejas plásticas, contendo como substrato areia + solo, na proporção de 2:1. A umidade do substrato foi ajustada para 70% da capacidade de retenção de água, conforme prescrições da International Seed Testing Association - ISTA (2008). Foram realizadas seis repetições de 50 sementes por tratamento. Após a semeadura, as bandejas foram colocadas em câmara fria, a 10 °C, por sete dias e, posteriormente, transferidas para câmara de crescimento vegetal, à temperatura de 25 °C, em regime de luz alternado de luz e escuro (12 horas), onde foram mantidas por sete dias, quando se procedeu à avaliação. Os resultados foram expressos em número de plântulas normais emergidas.

### **2.5.2.5 Teste de sanidade**

As sementes foram incubadas em placas de Petri de 15 cm contendo três folhas de papel filtro umedecidos com água. Foram utilizadas 25 sementes de cada tratamento por placa, num total de seis repetições. As placas permaneceram 24 horas à temperatura ambiente e, posteriormente, foram mantidas por 24 horas

à temperatura de -20 °C (MACHADO, 1988). Em seguida, as placas com as sementes foram incubadas à temperatura de 20 °C, sob regime de 12 horas de luz e 12 horas de escuro, onde permaneceram por quatorze dias, quando foram avaliadas quanto à presença de patógenos, em especial *Stenocarpella maydis*.

## **2.6 Delineamento experimental e análise estatística**

O delineamento experimental utilizado para as avaliações primárias foi o de blocos casualizados, com três repetições, em esquema fatorial 4 x 5, sendo quatro híbridos de milho e cinco métodos de inoculação de *Stenocarpella maydis*, quatro com inoculação artificial e um tratamento testemunha, sem inoculação.

Já para as avaliações de sanidade de sementes e da qualidade fisiológica, o delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados, com três repetições, em esquema fatorial 4 x 5 x 2, sendo quatro híbridos, cinco métodos de inoculação e duas condições de armazenamento, antes e após o período de 12 meses de armazenamento.

Os dados de incidência, severidade, grãos ardidos e sanidade de sementes foram transformados em  $\sqrt{x + 0,5}$ , por excesso de valores iguais a zero e, portanto, por não apresentarem distribuição normal, um dos pressupostos da análise de variância. Os resultados foram comparados pelo teste de médias Scott-Knott, utilizando-se o programa computacional SAS, versão 9.0.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

#### 3.1 Avaliações primárias

Na Tabela 15 são apresentados os resumos das análises de variância para incidência de *Stenocarpella maydis* em espigas, severidade da doença, produtividade, porcentagem de grãos ardidos e peso de mil sementes. Pelos resultados da análise, os fatores métodos de inoculação foram, isoladamente, significativos para incidência e severidade. Já para a avaliação de produtividade e peso de mil sementes, foram observados efeitos significativos dos fatores híbridos e métodos de inoculação. Para porcentagem de grãos ardidos foram constatadas significâncias dos fatores isolados e da interação híbridos x métodos.

Tabela 15 Resumo da análise de variância dos resultados dos testes de incidência de *Stenocarpella maydis* em espigas (INCID.), severidade do fungo (SEV.), produtividade (PROD.), porcentagem de grãos ardidos (G.A.) e peso de mil sementes, nos diferentes tratamentos de milho. UFLA, Lavras, MG, 2012

FV	GL	QM				
		INCID.	SEV.	PROD.	G.A.	Peso de mil sementes
Híbridos (H)	3	28,81	14,26	24816874,86*	1,80*	125182107,83*
Métodos (M)	4	3220,91*	2502,74*	3784903,87*	15,05*	23949077,80*
H x M	12	168,88	139,11	1934471,35	1,44*	1962918,46
Blocos	2	624,42	392,25	9168748,06	1,53	8921719,21
Erro	38	104,43	85,37	1074882,10	0,50	1444158,32
Total	59					
Precisão experimental		AS=93,4%	AS=93%	CV=8,2%	CV=28,7%	CV=3,3%

\*Significativo, a 5% de probabilidade, pelo Teste F

### 3.1.1 Incidência e severidade de *Stenocarpella maydis* em espigas

Pelos resultados da análise de variância dos dados transformados de incidência do fungo nas espigas e severidade da doença (Tabela 15), observa-se que os valores das variáveis respostas em questão não foram influenciados pelos diferentes germoplasmas, já que apenas métodos de inoculação tiveram efeito significativo.

Para as duas variáveis, de acordo com os resultados, independente dos híbridos utilizados, as maiores incidências do fungo e severidades da doença foram observadas quando foram realizadas inoculações pelo método de injeção na bainha da espiga, seguido pela inoculação pelo método de aspersão dos estilo-estigmas (Tabela 16).

Tabela 16 Resultados médios de incidência e severidade de *Stenocarpella maydis* encontradas em espigas de híbridos de milho, inoculados com *Stenocarpella maydis*, por meio de cinco metodologias de inoculação. UFLA, Lavras, MG, 2012

Métodos de inoculação	INCID.	SEV.
Testemunha	1,31 a	0,89 a
Injeção no colmo	1,31 a	1,04 a
Deposição no cartucho	1,71 a	1,22 a
Aspersão	9,43 b	6,69 b
Injeção na bainha da espiga	22,03 c	17,23 c

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade

A inoculação por meio da injeção na bainha da espiga resultou em incidência do fungo na ordem de 22,03% e severidade de 17,23%, respectivamente. Já para a inoculação pelo método de aspersão foram observadas médias de incidência e de severidade iguais a 9,43% e 6,69%,

respectivamente. Os demais métodos, deposição no cartucho e injeção no colmo, mostraram-se pouco eficientes, visto que apresentaram resultados muito baixos e que não diferiram significativamente entre si e do tratamento testemunha (sem inoculação).

### 3.1.2 Produtividade

Para a avaliação de produtividade foi observado, de acordo com os resultados, que menores produtividades foram alcançadas com a utilização das inoculações por meio de injeção na bainha da espiga e aspersão (11.867 e 12.351 kg.ha<sup>-1</sup>, respectivamente), embora não tenham diferido estatisticamente do tratamento testemunha (12.555 kg.ha<sup>-1</sup>). Já com as inoculações por métodos de injeção no colmo e deposição no cartucho, as produtividades alcançaram valores superiores a 13.000 kg.ha<sup>-1</sup>, não diferindo estatisticamente entre si (Tabela 17).

Embora não tenham diferido da testemunha, as sementes dos tratamentos que tiveram maior incidência e severidade (Tabela 16) foram as que apresentaram menor produtividade.

Tabela 17 Resultados médios de produtividade de sementes de espigas de híbridos de milho, inoculados com *Stenocarpella maydis*, por meio de cinco metodologias de inoculação. UFLA, Lavras, MG, 2012

Métodos de inoculação	PROD. (kg.ha <sup>-1</sup> )
Injeção no colmo	13.196 a
Deposição no cartucho	13.156 a
Testemunha	12.555 b
Aspersão	12.351 b
Injeção na bainha da espiga	11.867 b

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade

Pelos resultados obtidos neste ensaio, para o fator híbrido (Tabela 18), o híbrido BM 810 foi o que apresentou menor produtividade. Dois híbridos, DKB 390 e 2A 525, tiveram produtividades intermediárias, não apresentando diferenças significativas entre elas e o híbrido BMX 861 apresentou a maior produtividade, superior a 14.000 kg.ha<sup>-1</sup>.

Tabela 18 Resultados médios de produtividade de sementes de espigas de quatro híbridos de milho, inoculados com *Stenocarpella maydis*. UFLA, Lavras, MG, 2012

Híbridos	PROD. (kg.ha <sup>-1</sup> )
BMX 861	14.297 a
2A 525 Hx	12.544 b
DKB 390	12.498 b
BM 810	11.160 c

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade

A diferença entre as produções dos híbridos, como a apresentada na Tabela 18, ocorreu em função de uma série de fatores, e não só em função dos diferentes materiais genéticos, que, é claro, têm diferentes capacidades produtivas. As diferenças entre as produções também ocorreram devido às diferenças entre os locais e condições climáticas a que esses híbridos são recomendados e as condições a que foram submetidos durante a produção, ao tipo de solo, ao manejo, enfim, quaisquer tratamentos culturais diferentes daqueles considerados ótimos para a produção de cada um dos híbridos pode ter contribuído para que a média de um dos híbridos pudesse diferir da dos outros.

Apresentando ou não reais diferenças entre as produtividades de cada híbrido, pode-se observar que esses valores estão acima da produtividade média nacional que é de 4.311 kg.ha<sup>-1</sup> (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2012). Estes resultados corroboram os obtidos

por Ribeiro et al. (2005) que, avaliando a incidência de podridões de grãos, obtiveram, também, produtividades potenciais superiores a 13.000 kg.ha<sup>-1</sup>.

### 3.1.3 Porcentagem de grãos ardidos

Para porcentagem de grãos ardidos, submetida à transformação de dados, observa-se que para cada híbrido foi encontrada uma alternância entre os métodos de inoculação mais eficientes. Entretanto, de maneira geral, para a maioria dos híbridos, maiores porcentagens desses grãos foram encontradas com a utilização da inoculação por injeção na bainha da espiga, seguida pela inoculação por meio da aspersão (Tabela 19), resultados que estão de acordo com os apresentados nas porcentagens de incidência e severidade do fungo nas espigas (Tabela 16).

Tabela 19 Resultados médios de porcentagem de grãos ardidos de espigas de quatro híbridos de milho, inoculados com *Stenocarpella maydis*, por meio de cinco metodologias de inoculação. UFLA, Lavras, MG, 2012

Métodos de inoculação	Híbridos			
	BM 810	BMX 861	2A 525 Hx	DKB 390
Testemunha	3,00 a A	4,00 a A	1,33 a A	3,00 a A
Injeção no colmo	1,00 a A	2,00 a A	0,33 a A	3,67 a A
Deposição no cartucho	1,33 a A	4,00 a A	7,33 b A	3,67 a A
Aspersão	19,67 c B	5,00 a A	6,33 b A	18,00 b B
Injeção na bainha da espiga	8,00 b A	19,33 b B	13,00 b A	24,00 b B

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade

Para o híbrido BMX 861, apenas a inoculação por meio da injeção na bainha da espiga apresentou diferença significativa. Para o 2A 525 Hx, deposição no cartucho, aspersão e injeção na bainha da espiga não diferiram estatisticamente entre si e apresentaram maiores porcentagens de grãos ardidos. Para o DKB 390, aspersão e injeção na bainha foram os métodos que resultaram em maiores porcentagens de grãos ardidos. Já para o híbrido BM 810, os melhores resultados da inoculação foram encontrados com a utilização da inoculação por aspersão, seguida pela inoculação por meio da injeção na bainha da espiga.

Embora a inoculação por aspersão seja bastante influenciada pelas condições ambientais (BENSCH; STADEN; RIJKENBERG, 1992), podendo-se citar, principalmente, a ocorrência de chuvas logo após a inoculação do fungo nas plantas e sua utilização possa acarretar problemas em programas de melhoramento, este método, mais do que a injeção na bainha da espiga, tratamento que mais resultou em grãos ardidos para os outros híbridos, pareceu fornecer bons resultados para a produção de grãos ardidos para o híbrido em questão, estando de acordo com os resultados encontrados por Klapproth e Hawk (1991), que recomendaram tal metodologia.

A justificativa, no entanto, para que apenas o BM 810, único dos quatro híbridos testados, apresente a inoculação por aspersão como a mais eficiente em resultar em grãos ardidos, pode ser em função do grau de empalhamento deste híbrido, já que, segundo Mário (1998), este método permite melhor avaliação do efeito de proteção das brácteas, além da resistência fisiológica intrínseca.

### **3.1.4 Peso de mil sementes**

Para a avaliação do peso de mil sementes foi encontrado efeito significativo para os fatores métodos de inoculação e híbridos (Tabela 15), de

maneira isolada. Para o fator métodos, de acordo com os resultados, menores pesos de sementes foram observados somente com a utilização das inoculações por meio da injeção na bainha da espiga das plantas (Tabela 20). Para as sementes oriundas de plantas inoculadas com os demais métodos de inoculação, não houve diferenças no peso de mil sementes e o daquelas oriundas de plantas da testemunha.

A contaminação e a infecção das sementes provenientes da inoculação das plantas por meio da injeção na bainha da espiga resultaram na diminuição do peso das sementes, quando analisados os métodos de inoculação de maneira isolada.

Tabela 20 Resultados médios de peso de mil sementes encontrados em sementes de espigas de híbridos de milho, inoculados com *Stenocarpella maydis*, por meio de cinco metodologias de inoculação. UFLA, Lavras, MG, 2012

Métodos de inoculação	P 1000
Deposição no cartucho	371,51 a
Testemunha	368,74 a
Injeção no colmo	363,64 a
Aspersão	363,73 a
Injeção na bainha da espiga	336,22 b

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade

Para o fator híbridos, de acordo com os resultados da Tabela 21, os menores pesos de sementes observados foram os dos híbridos BM 810, seguido pelo 2A 525 Hx, ambos considerados como de alta tolerância ao fungo *Stenocarpella maydis*. BMX 861 e DKB 390 apresentaram maiores pesos de mil sementes, não diferindo estatisticamente entre si.

Embora os híbridos considerados tolerantes à doença tenham alcançado menor peso de sementes no teste em questão, não se pode afirmar que há uma relação direta deste peso com a presença do fungo nas sementes.

Os diferentes genes de cada híbrido proporcionam diferenças quanto ao tamanho e à densidade das sementes que são características que podem ter se mostrado mais intimamente ligadas ao peso de mil sementes do que à infecção fúngica, quando se comparam apenas híbridos avaliando seus pesos de mil sementes.

Tabela 21 Resultados médios de peso de mil sementes de quatro híbridos de milho, inoculados com *Stenocarpella maydis*. UFLA, Lavras, MG, 2012

Híbridos	Peso de mil sementes
BMX 861	382.02 a
DKB 390	380.79 a
2 A 525 Hx	360.12 b
BM 810	320.14 c

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade

### 3.2 Testes da qualidade fisiológica e de sanidade de sementes

Pelos resultados da análise de variância dos testes da qualidade fisiológica (Tabela 22), observa-se que os fatores híbridos, métodos de inoculação e armazenamento, bem como a interação híbridos x métodos, foram significativos para os testes de germinação, envelhecimento acelerado, emergência em bandejas e teste de frio. Para o teste de envelhecimento acelerado foi ainda observado efeito significativo da interação tripla entre os fatores. Para a emergência em bandejas, além dos efeitos significativos dos fatores de forma isolada e da interação híbridos x métodos, foi constatada a

significância da interação métodos x armazenamento. Já para o teste de frio, todos os fatores e todas as interações entre eles mostraram-se significativos.

Tabela 22 Resumo da análise de variância dos resultados dos testes de germinação (T.G.), de envelhecimento acelerado (E.A.), emergência em bandejas (E.B.) e teste de frio (T.F.), nos diferentes tratamentos de milho, antes e após o armazenamento. UFLA, Lavras, MG, 2012

FV	GL	QM			
		T.G.	E.A.	E.B.	T.F.
Híbridos	3	4252777,77*	931194,44*	2378076,38*	1637388,88*
Métodos	4	34432791,66*	37113041,66*	40248833,33*	23426125,00*
Armazenamento	1	3008333,33*	12096750,00*	3978520,83*	558145333,33*
Híb. x Met.	12	3932847,22*	1990986,11*	4617277,77*	1982180,55*
Híb. x Armaz.	3	369222,22	120527,77	323743,05	960388,88*
Mét. x Armaz.	4	326875,00	394458,33	643416,66*	3747000,00*
Híb. x Met. x Armaz.	12	196375,00	485180,55*	358638,88	470944,44*
Blocos	2	63083,33	343000,00	1030895,83	56583,33
Erro	78	173767,09	160350,42	197348,82	101433,76
Total	119				
	CV	5,2%	5,4%	5,6%	5,5%

\* Significativo a 5% de probabilidade pelo teste de F

### 3.2.1 Teste de germinação

Observa-se, pelos resultados do teste de germinação, que, em geral, os piores resultados de germinação foram obtidos com sementes oriundas de plantas que foram inoculadas pelo método de injeção na bainha da espiga, seguido pelo método de aspersão (Tabela 23), resultado semelhante aos apresentados pelos testes de incidência de *Stenocarpella maydis* e severidade da doença.

As inoculações através da injeção na bainha da espiga proporcionaram, em geral, as menores porcentagens de germinação, permitindo a inferência de que tal metodologia de inoculação foi a mais eficiente, contribuindo para que houvesse maiores perdas na germinação dos híbridos BMX 861, 2A 525 Hx e DKB 390. Para estes dois últimos híbridos, seguidos das médias proporcionadas pela inoculação através da injeção na bainha da espiga, as médias de germinação de sementes oriundas da inoculação por aspersão também diferiram quando comparadas com as dos demais métodos de inoculação artificial e com a testemunha. Já para o híbrido BMX 861, aspersão e deposição no cartucho foram as metodologias que, depois da injeção na bainha da espiga, resultaram em maiores perdas de germinação, não tendo as demais diferido entre si.

Para o híbrido BM 810, menores porcentagens de germinação foram apresentadas pelas sementes cujos híbridos receberam inoculação pelo método de aspersão, seguido pelo método de injeção na bainha da espiga, resultado semelhante aos de porcentagem de grãos ardidos apresentados na Tabela 19.

Tabela 23 Resultados médios de porcentagem de germinação de sementes de quatro híbridos de milho, inoculados com *Stenocarpella maydis* através de cinco metodologias de inoculação. UFLA, Lavras-MG, 2012

MÉTODOS	HÍBRIDOS			
	BM 810	BMX 861	2A 525 Hx	DKB 390
Testemunha	91 a A	85 a B	88 a B	94 a A
Injeção no colmo	91 a A	88 a B	93 a A	86 b B
Deposição no cartucho	87 a A	79 b B	89 a A	87 b A
Aspersão	57 c C	79 b A	83 b A	66 c B
Injeção na bainha da espiga	75 b A	51 c C	71 c A	56 d B

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade

Quanto ao armazenamento, maiores porcentagens médias de germinação de plântulas normais foram observadas antes do processo de armazenagem (81%). Após este período, observa-se que houve redução da qualidade fisiológica das sementes, independente dos híbridos e dos métodos de inoculação utilizados (78%), já que, segundo Sartori, Reis e Casa (2004), mesmo após armazenamento das sementes, os fungos podem infectar as diversas partes das plântulas, como tegumento, raiz primária, coleótilo, entrenó subcoronal e base das folhas, reduzindo a qualidade fisiológica das sementes.

Tabela 24 Resultados médios de porcentagem de germinação de sementes de híbridos de milho, inoculados com *Stenocarpella maydis*, por meio de diferentes metodologias, antes e após o armazenamento. UFLA, Lavras, MG, 2012

ARMAZENAMENTO	Médias
ANTES	81 a
APÓS	78 b

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade

### 3.1.2 Teste de envelhecimento acelerado

Observa-se, pelos resultados do teste de envelhecimento acelerado, que, em geral, quando os híbridos receberam a inoculação pelo método de injeção na bainha da espiga e aspersão, menores porcentagens médias de germinação de plântulas foram observadas, independente do armazenamento. Além disso, observou-se que as sementes provenientes das plantas inoculadas pelo método de injeção no colmo não diferiram, quanto à qualidade pelo teste de envelhecimento acelerado, daquelas em que as plantas não foram inoculadas. No entanto, vale ressaltar que o método de injeção no colmo não foi eficiente para a infecção das espigas.

Para os híbridos BMX 861 e DKB 390, independente de as sementes terem sido armazenadas ou não, as inoculações por meio da injeção na bainha da espiga, seguidas das inoculações por meio de aspersões nos estilo-estigmas, foram as que resultaram em menores porcentagens de germinação de plântulas, no teste de envelhecimento acelerado.

Para o híbrido 2A 525 Hx, antes do armazenamento, observou-se baixa porcentagem de plântulas normais pela inoculação por injeção na bainha da espiga e, em menor quantidade, pela inoculação por meio da aspersão. Após o armazenamento, injeção na bainha da espiga continuou sendo o método de inoculação mais eficiente, e aspersão e injeção no colmo foram os métodos que, em sequência, mais reduziram a porcentagem das plântulas normais.

Já para o híbrido BM 810, menores porcentagens de plântulas normais foram obtidas quando, nas plantas, foram realizadas inoculações pelo método de aspersão, seguido pela inoculação por meio do método de injeção na bainha da espiga, independente de as sementes terem sido armazenadas ou não. Para este híbrido, tanto antes quanto após o armazenamento, as inoculações pelos demais métodos de inoculação não diferiram entre si e a testemunha.

Tabela 25 Resultados médios de porcentagem de plântulas normais no teste de envelhecimento acelerado de sementes de quatro híbridos de milho, inoculados com *Stenocarpella maydis*, por meio de cinco metodologias de inoculação, antes e após o armazenamento. UFLA, Lavras, MG, 2012

MÉTODOS	HÍBRIDOS							
	BM 810		BMX 861		2A 525 Hx		DKB 390	
	ANTES	APÓS	ANTES	APÓS	ANTES	APÓS	ANTES	APÓS
Testemunha	86 a A	83 a A	84 a A	79 a A	83 a A	84 a A	95 a A	85 a B
Injeção no colmo	90 a A	77 a B	84 a A	81 a A	85 a A	76 b B	91 a A	78 a B
Dep. no cartucho	86 a A	78 a B	89 a A	70 b B	87 a A	83 a A	82 b A	82 a A
Aspersão	53 c A	50 c A	75 b A	63 c B	75 b A	71 b A	62 c A	58 b A
Injeção na bainha da espiga	65 b A	63 b A	56 c A	54 d A	67 c A	58 c B	53 d A	51 c A

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula para cada um dos híbridos, nas linhas, e minúsculas nas colunas, não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade

### 3.1.3 Teste de emergência em bandeja

Observa-se, pelos resultados do teste de emergência em bandeja, que, em geral, quando os híbridos receberam a inoculação por meio da injeção na bainha da espiga e aspersão, foram observadas reduções nas porcentagens médias de emergência das plântulas de cada híbrido.

Para o híbrido DKB 390, as inoculações por injeção na bainha da espiga e aspersão, nesta ordem, causaram maior redução de emergência de plântulas, com os demais métodos não diferindo entre si e a testemunha. Já para o híbrido BM 810, aspersão e, na sequência, injeção na bainha da espiga e deposição no cartucho foram os métodos que causaram maior redução da emergência de plântulas.

Para os híbridos BMX 861 e 2A 525 Hx, maiores reduções de emergência de plântulas foram encontradas com a utilização de inoculações por meio da injeção na bainha da espiga, aspersão e deposição no cartucho, para o primeiro híbrido e injeção na bainha da espiga, aspersão e a testemunha, para o segundo híbrido, com os demais não diferindo entre si.

Tabela 26 Resultados médios de porcentagem de emergência de plântulas de quatro híbridos de milho, inoculados com *Stenocarpella maydis*, por meio de cinco metodologias de inoculação. UFLA, Lavras, MG, 2012

MÉTODOS	HÍBRIDOS			
	BM 810	BMX 861	2A 525 Hx	DKB 390
Testemunha	87 a B	89 a B	86 b B	94 a A
Injeção no colmo	90 a A	90 a A	92 a A	88 a A
Deposição no cartucho	84 b B	81 b B	93 a A	90 a A
Aspersão	54 c C	75 c A	79 c A	63 b B
Injeção na bainha da espiga	79 b A	58 d C	67 d B	48 c D

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade

Para o teste de emergência em bandejas, foi, ainda, observado efeito significativo da interação métodos x armazenamento (Tabela 22). De acordo com os resultados (Tabela 27), pode-se afirmar que, independente dos híbridos, antes do armazenamento, encontrou-se perda da porcentagem de emergência de plântulas oriundas apenas de plantas inoculadas pelo método de injeção na bainha da espiga e aspersão, que não diferiram entre si. Após o armazenamento, injeção na bainha da espiga, seguida por aspersão e por deposição no cartucho, foi o método que resultou em menor porcentagem de plântulas normais, no teste.

De acordo com os dados da Tabela 27, é possível concluir, ainda, que apenas as sementes oriundas de plantas inoculadas pelo método de deposição no cartucho e testemunha apresentaram redução da qualidade das sementes, quando comparadas as médias de emergência de plântulas de cada um dos métodos de inoculação, antes e após o armazenamento. Os demais métodos não apresentaram redução significativa de qualidade após o armazenamento.

Tabela 27 Resultados médios de porcentagem de emergência de plântulas oriundas de plantas inoculadas com *Stenocarpella maydis*, por meio de diferentes metodologias de inoculação, antes e após o armazenamento. UFLA, Lavras, MG, 2012

MÉTODOS	ARMAZENAMENTO	
	ANTES	APÓS
Testemunha	91 a A	87 a B
Injeção no colmo	91 a A	89 a A
Deposição no cartucho	91 a A	83 b B
Aspersão	67 b A	68 c A
Injeção na bainha da espiga	65 b A	62 d A

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade

### 3.1.4 Teste de frio

Verifica-se que, para o teste de frio, assim como para o de envelhecimento acelerado, a interação híbridos x métodos x armazenamento foi significativa. Para este teste, apenas o híbrido BM 810 manteve as médias de emergência de plântulas com o mesmo comportamento, antes e após o armazenamento, para cada método de inoculação. Aspersão, seguida pelo método de inoculação através da injeção na bainha da espiga e deposição no cartucho, nesta ordem, resultaram em menores porcentagens de emergência de plântulas. Injeção no colmo e testemunha não apresentaram médias que diferiram estatisticamente entre si.

Para os híbridos BMX 861 e DKB 390, antes do armazenamento, verificou-se maior redução na porcentagem de emergência de plântulas oriundas de plantas que foram inoculadas por meio da injeção na bainha da espiga e em menor porcentagem àquelas oriundas de plantas inoculadas por aspersão. Após o armazenamento, para o híbrido BMX 861, injeção na bainha da espiga, seguida pelos métodos de aspersão e deposição no cartucho, que não diferiram entre si, foram os métodos de inoculação que apresentaram menores porcentagens de emergência de plântulas. Já para o DKB 390, aspersão e injeção na bainha da espiga não diferiram entre si e foram os métodos mais eficientes em causar redução de emergência de plântulas.

Para o híbrido 2A 525 Hx, antes do armazenamento, aspersão e testemunha não apresentaram diferença estatística entre si e só não resultaram em menor emergência de plântulas do que a inoculação através da injeção na bainha da espiga. Após o armazenamento, testemunha e injeção no colmo não diferiram entre si e deposição no cartucho, aspersão e injeção na bainha da espiga tiveram semelhante efeito sobre as médias de emergência de plântulas, não diferindo estatisticamente entre si.

Pelos dados da Tabela 28, verifica-se também que, em todos os híbridos, quando comparadas as médias de emergência de plantas antes e após o armazenamento, ocorreu perda da qualidade das sementes, que tiveram reduções significativas de emergência de plantas.

Tabela 28 Resultados médios de porcentagem de emergência de plântulas no teste de frio de quatro híbridos de milho, inoculados com *Stenocarpella maydis*, por meio de cinco metodologias de inoculação, antes e após o armazenamento. UFLA, Lavras, MG, 2012

MÉTODOS	HÍBRIDOS							
	BM 810		BMX 861		2A 525 Hx		DKB 390	
	ANTES	APÓS	ANTES	APÓS	ANTES	APÓS	ANTES	APÓS
Testemunha	91 a A	42 a B	91 a A	44 a B	88 b A	43 a B	92 a A	45 a B
Injeção no colmo	91 a A	37 b B	87 a A	44 a B	95 a A	43 a B	90 a A	43 a B
Dep. No cartucho	84 b A	35 b B	84 a A	39 b B	93 a A	37 b B	88 a A	42 a B
Aspersão	57 d A	27 d B	77 b A	36 b B	85 b A	37 b B	59 b A	30 b B
Injeção na bainha da espiga	75 c A	33 c B	50 c A	25 c B	66 c A	32 b B	53 c A	25 b B

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade

### 3.1.5 Teste de sanidade

Pelos resultados da análise de variância do teste de sanidade de sementes (Tabela 29), observa-se que o fator armazenamento foi significativo para a ocorrência dos fungos *Fusarium* spp., *Penicillium* spp. e *Stenocarpella maydis*. O fator híbrido, de forma isolada, foi significativo apenas para a ocorrência do fungo *Fusarium* spp. e o fator métodos de inoculação se mostrou significativo para a ocorrência de *Penicillium* spp. e *S. maydis*. Para este último fungo, além de métodos e armazenamento, fatores que se mostraram significativos de maneira isolada, a interação híbridos x métodos também foi significativa.

Tabela 29 Resumo da análise de variância dos resultados dos principais fungos observados no teste de sanidade de sementes, provenientes de quatro híbridos de milho, inoculados com *Stenocarpella maydis*, por meio de diferentes metodologias, antes e após o armazenamento. UFLA, Lavras, MG, 2012

FV	GL	QM		
		<i>Fusarium</i> spp.	<i>Penicillium</i> spp.	<i>Stenocarpella</i> <i>maydis</i>
Híbridos	3	523,90*	290,95	220,23
Métodos	4	97,48	439,58*	7733,02*
Armazenamento	1	979,77*	16558,26*	3424,76*
Híb. x Mét.	12	112,01	157,44	324,52*
Híb. x Armaz.	3	54,16	36,26	74,75
Mét. x Armaz.	4	44,66	118,27	69,26
Híb. x Mét. x Armaz.	12	30,76	51,97	60,76
Blocos	2	58,79	334,48	719,88
Erro	78	70,45	111,90	131,93
Total	119			
CV		10,8%	14,2%	50,4%

\* Significativo, a 5% de probabilidade, pelo teste de F

Para a avaliação dos fungos *Fusarium* spp. e *Penicillium* spp., quando comparadas as médias apenas entre híbridos (Tabela 30), observa-se que somente para *Fusarium* spp. ocorreu diferença estatística do híbrido DKB 390 para com os demais híbridos, que apresentaram maior incidência do fungo. Comparadas as médias de incidência destes dois fungos entre métodos de inoculação (Tabela 31), constatou-se que apenas para *Penicillium* spp. foi observada diferença estatística, tendo o tratamento testemunha e a inoculação pelo método de deposição no cartucho sido os que apresentaram maior incidência do fungo, com os demais não diferindo entre si.

Tabela 30 Resultados médios de porcentagem de incidência de fungos em sementes de híbridos de milho. UFLA, Lavras, MG, 2012

HÍBRIDOS	MÉDIAS	
	<i>Fusarium</i> spp.	<i>Penicillium</i> spp.
2 A 525 Hx	68 b	53 a
BMX 861	64 b	56 a
BM 810	61 b	63 a
DKB 390	53 a	62 a

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade

Tabela 31 Resultados médios de porcentagem de incidência de fungos em sementes oriundas de plantas inoculadas com cinco metodologias de inoculação. UFLA, Lavras, MG, 2012

MÉTODOS	MÉDIAS	
	<i>Fusarium</i> spp.	<i>Penicillium</i> spp.
Deposição no cartucho	66 a	66 b
Testemunha	61 a	61 b
Injeção no colmo	61 a	58 a
Aspersão	62 a	56 a
Injeção na bainha da espiga	58 a	51 a

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade

Quando comparadas as médias de incidência dos fungos *Fusarium* spp., *Penicillium* spp. e *Stenocarpella maydis*, antes e após o armazenamento (Tabela 32), verificou-se que houve um aumento da incidência dos dois primeiros, após o armazenamento. Estes resultados corroboram os de Antonello et al. (2009) que observaram que, além de estes dois fungos terem incidência aumentada após o armazenamento de algumas variedades de milho, o crescimento rápido e agressivo de *Fusarium* spp. suprimiu a incidência de outros fungos, como ocorreu com o fungo *Stenocarpella maydis* para o qual, neste teste, após o armazenamento, verificou-se redução da incidência do fungo.

Tabela 32 Resultados médios de porcentagem de incidência de fungos em sementes de milho antes e após o armazenamento. UFLA, Lavras, MG, 2012

ARMAZENAMENTO	MÉDIAS		
	<i>Fusarium</i> spp.	<i>Penicillium</i> spp.	<i>S. maydis</i>
ANTES	57 a	42 a	12 b
APÓS	66 b	75 b	7 a

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade

Para a avaliação da ocorrência de *Stenocarpella maydis* no teste de sanidade de sementes, além da significância do fator armazenamento, foi observada a significância da interação híbridos x métodos (Tabela 22). De acordo com os resultados da Tabela 33, para os híbridos BMX 861, 2A 525 Hx e DKB 390, foram encontradas maiores quantidades do fungo *S. maydis* em sementes oriundas de plantas inoculadas por meio da injeção na bainha da espiga e, na sequência, em sementes oriundas da inoculação de plantas por aspersão. Os demais métodos de inoculação não diferiram da testemunha.

A inoculação por meio da injeção na espiga se mostrou bastante eficiente, uma vez que foi possível a recuperação do fungo no teste de sanidade com porcentagens que variaram entre 12% e 34%, dependendo dos híbridos.

Para o híbrido BM 810, como visto na maioria dos testes, a inoculação pela aspersão apresentou maior eficiência na infecção das sementes, resultando em maior incidência do fungo no teste de sanidade de sementes e maiores perdas de qualidade, quando comparada com a inoculação pela injeção na bainha da espiga.

Tabela 33 Resultados médios de porcentagem de incidência de fungos em sementes de quatro híbridos de milho, inoculados com *Stenocarpella maydis*, através de cinco metodologias de inoculação. UFLA, Lavras, MG, 2012

MÉTODOS	HÍBRIDOS			
	BM 810	BMX 861	2A 525 Hx	DKB 390
Testemunha	2 a A	0 a A	1 a A	4 a A
Injeção no colmo	3 a A	2 a A	1 a A	4 a A
Deposição no cartucho	4 a A	3 a A	2 a A	5 a A
Aspersão	25 c B	8 b A	15 b A	14 b A
Injeção na bainha da espiga	12 b A	29 c B	23 b B	34 c B

Médias seguidas pela mesma letra, maiúscula nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem estatisticamente entre si, pelo Teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade

#### 4 CONCLUSÕES

Não houve diferença de resistência dos híbridos para as determinações de incidência e severidade de *Stenocarpella maydis* nas espigas. Já para porcentagem de grãos ardidos, observaram-se diferenças quanto a essa resistência.

Maiores valores de incidência, severidade e porcentagem de grãos ardidos e menores valores de produtividade foram obtidos com as inoculações por meio de injeção na bainha da espiga e aspersão.

O peso de mil sementes foi reduzido quando feita a inoculação por meio da injeção na bainha da espiga.

Houve redução da qualidade fisiológica das sementes oriundas das plantas inoculadas com *Stenocarpella maydis* pelos métodos de aspersão e injeção na bainha, tanto antes quanto após o armazenamento.

Para a qualidade sanitária, maiores incidências de *Stenocarpella maydis* foram observadas por meio das inoculações de aspersão e injeção na bainha da espiga.

## REFERÊNCIAS

- ANTONELLO, L. M. et al. Qualidade de sementes de milho armazenadas em diferentes embalagens. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 7, p. 2191-2194, out. 2009.
- BENSCH, M. J.; STADEN, J. van; RIJKENBERG, F. H. J. Time and site of inoculation of maize for optimum infection of ears by *Stenocarpella maydis*. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 136, n. 12, p. 265-269, Dec. 1992.
- BRASIL. Portaria nº 11, de 12 de abril de 1996. Estabelece critérios complementares para classificação do milho. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, n. 72, p. 3, 13 abr. 1996. Seção 1.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 2009. 399 p.
- CARVALHO, E. M. et al. Relação do tamanho de sementes de milho e doses de fungicida no controle de *Stenocarpella maydis*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 4, p. 389-393, out./dez. 2004.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento de safra brasileira: grãos**, quarto levantamento, janeiro 2012. Brasília, 2012. 38 p.
- DANTAS, A. A. A.; CARVALHO, L. G.; FERREIRA, E. Classificação e tendências climáticas em Lavras, MG. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 6, p. 1862-1866, nov./dez. 2007.
- DUARTE, R. P. et al. Comportamento de diferentes genótipos de milho com aplicação foliar de fungicida quanto à incidência de fungos causadores de grãos ardidos. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 25, n. 4, p. 112-122, 2009.
- INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION. **International rules for seed testing**. Bassersdorf, 2008. 205 p.
- KLAPPROTH, J. C.; HAWK, J. A. Evaluation of four inoculation techniques for infecting corn ears with *Stenocarpella maydis*. **Plant Disease**, Quebec, v. 75, n. 10, p. 1057-1060, Oct. 1991.
- MACHADO, J. C. **Patologia de sementes: fundamentos e aplicações**. Brasília: MEC/ESAL/FAEPE, 1988. 106 p.

MÁRIO, J. L. **Comparação de métodos de inoculação de *Diplodia maydis* em espigas de milho e reação de híbridos em condições de infecção natural de *Diplodia macrospora***. 1998. 80 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Passo Fundo, Passo Fundo, 1998.

MCKINNEY, H. H. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedings by *Helminthosporium sativum*. **Journal Agricultural Research**, Washington, v. 26, n. 5, p. 195-219, Nov. 1923.

RIBEIRO, N. A. et al. Incidência de podridões do colmo, grãos ardidos e produtividade de grãos de genótipos de milho em diferentes sistemas de manejo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 5, p. 1003-1009, set./out. 2005.

SARTORI, A. F.; REIS, E. M.; CASA, R. T. Quantificação da transmissão de *Fusarium moniliforme* de sementes para plântulas de milho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 4, p. 456-458, out./dez. 2004.

SHURTLEFF, M. C. **Compendium of corn diseases**. Urbana: APS, 1980. 105 p.