



RENATO BARBOSA CAMARGOS

**REAÇÃO DE HÍBRIDOS DE MILHO À
MANCHA-BRANCA, CERCOSPORIOSE E
FERRUGEM COMUM**

LAVRAS - MG

2013

RENATO BARBOSA CAMARGOS

**REAÇÃO DE HÍBRIDOS DE MILHO À MANCHA-BRANCA,
CERCOSPORIOSE E FERRUGEM COMUM**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de Mestre.

Orientador

Dr. João Cândido de Souza

Coorientador

Dr. Eduardo Alves

LAVRAS - MG

2013

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

Camargos, Renato Barbosa.

Reação de híbridos de milho à mancha-branca, cercosporiose e ferrugem comum / Renato Barbosa Camargos. – Lavras : UFLA, 2013.

70 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2013.

Orientador: João Cândido de Souza.

Bibliografia.

1. *Zea mays* L. 2. AACPD. 3. Mecanismos de defesa estrutural.
4. Épocas de avaliação. 5. Resistência genética. 6. Doenças fúngicas. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 631.523

RENATO BARBOSA CAMARGOS

**REAÇÃO DE HÍBRIDOS DE MILHO À MANCHA-BRANCA,
CERCOSPORIOSE E FERRUGEM COMUM**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 18 de fevereiro de 2013

Dr. João Bosco dos Santos UFLA

Dr. Edson Ampélio Pozza UFLA

Dr. João Cândido de Souza
Orientador

Dr. Eduardo Alves
Coorientador

LAVRAS - MG

2013

OFEREÇO

Aos meus pais, Nivaldo e Ivaneide; aos meus avós, Josias (*in memoriam*), Eva (*in memoriam*), Josafá (*in memoriam*) e Helena e a minha irmã Fernanda.

“Jamais se poderá expressar em simples palavras o sonho de um filho em tentar recompensar os sacrifícios de seus pais.” (GONÇALVES)

AGRADECIMENTOS

A Deus, por abençoar o meu caminho e pelas oportunidades que me tem sido concedidas.

Aos meus pais, Nivaldo e Ivaneide, a minha irmã Fernanda, ao meu primo e grande amigo Thiago pela compreensão quanto a minha ausência, pelo apoio incondicional e incentivo para que eu sempre acreditasse ser possível alcançar os meus objetivos.

A minha namorada Lívia, pelo amor e companheirismo sempre presentes ao longo desta caminhada.

As minhas madrinhas Maria, Sueli e Lúcia, e a minha tia Vilma pelo carinho e atenção durante a minha vida estudantil.

À Universidade Federal de Lavras e ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, pela oportunidade de poder realizar o curso de Mestrado.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

Aos professores João Cândido e Eduardo, pela orientação, companheirismo, confiança e amizade construída.

Aos membros da banca examinadora, professores João Bosco e Édson Pozza, por contribuírem de forma decisiva para a qualidade desta dissertação.

Aos professores da área de Genética e Melhoramento de Plantas, em especial aos professores João Bosco, Flávia Avelar, José Airton, Magno, Elaine, César e Édila, pelos ensinamentos transmitidos e agradável convivência.

A toda a turma de mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas 2011/1 pela união, alegria, momentos de estudo e pelas amizades construídas dentro e fora da sala de aula.

Ao grupo do milho, Carlão, Paulo Edu, Camila, Rafael, Guedes, Josiel, Juninho, Vavá, Lucas, Grampola, Carlos Henrique, Pedro e Natália, por todo o apoio na realização deste trabalho, pela amizade e ótimo convívio.

Aos amigos Paulo Edu e Rafael, pelo auxílio nas análises estatísticas e na redação desta Dissertação.

A todos os colegas do Núcleo de Estudos em Genética (GEN), pela amizade e boa convivência.

Aos funcionários do DBI, Heloísa, Lilian, Léo, Lindolfo, Zélia, Rafaela, Irondina, Dú, e Lamartine, por estarem sempre dispostos a ajudar.

Aos proprietários rurais Dona Aparecida e Magno pela oportunidade de instalação de experimentos em suas fazendas, pela oferta de infraestrutura para a condução dos mesmos, pela atenção e prazerosa convivência.

Aos companheiros da república 'Cunhão de Touro', Carlão, Guedes, Marcim e Michael pela amizade e apoio.

À querida Dona Sandra, zeladora da república pela atenção e boa vontade em ajudar.

Enfim, a todos aqueles que, direta ou indiretamente, estiveram comigo durante esta caminhada, o meu MUITO OBRIGADO!

RESUMO

A mancha-branca, cercosporiose e ferrugem comum são doenças de ampla ocorrência no Brasil e que têm causado expressiva redução da produtividade de grãos na cultura do milho no país. Os objetivos deste trabalho foram identificar híbridos de milho que apresentem alta produtividade de grãos e resistência à mancha-branca, cercosporiose e ferrugem comum; estimar a época de avaliação mais eficiente para mensurar a reação dos híbridos aos patógenos causadores dessas enfermidades; estimar o grau de associação entre o nível de resistência a essas doenças e as estruturas morfológicas espessura da epiderme, densidade estomática, densidade de tricomas e organização da camada de cera. Para isso, foram instalados em duas épocas de semeadura, dois experimentos no município de Lavras - MG, no ano agrícola de 2011/2012. O delineamento experimental utilizado foi o látice 6 x 5 com três repetições. Foram realizadas cinco avaliações da severidade das doenças, em intervalos de 10 dias, a partir de 60 dias da emergência das plantas. Posteriormente, estimou-se a área abaixo da curva de progresso das doenças (AACPD) e a correlação de *Sperman* entre as mesmas com as diversas épocas de avaliação de cada doença. Foi também obtida a produtividade de grãos, tomadas as medidas da espessura da epiderme, densidade estomática, densidade de tricomas para estimar a correlação dessas estruturas morfológicas com a AACPD de mancha-branca, cercosporiose e ferrugem comum, bem como, avaliada a organização da camada de cera. Constatou-se que os híbridos GNZ9501 PRO e GNZ9626 PRO apresentam alta produtividade de grãos e satisfatório nível de resistência à mancha-branca, cercosporiose e ferrugem comum; para a avaliação do nível de resistência a essas enfermidades deve-se optar pela avaliação no período que compreende 80 a 100 dias após a emergência das plantas, o qual fornece resultados semelhantes à AACPD; nas condições estudadas não há associação entre o nível de resistência a essas doenças e as estruturas morfológicas espessura da epiderme, densidade estomática, densidade de tricomas e a camada de cera de híbridos de milho.

Palavras-chave: *Zea mays* L. AACPD. Épocas de Avaliação. Mecanismos de defesa estrutural.

ABSTRACT

The white spot, grey spot and common rust are diseases with widespread occurrence in Brazil and that have been causing a significant reduction in grain yield in maize crop in the country. The objectives of this study were identify hybrids of maize which have high grain yield and resistance to white spot, grey spot and common rust; estimate the most efficient season of assessment to measure the reaction of the hybrids to the pathogens; estimate the degree of association between the level of resistance to these diseases and the morphological structures thickness of the epidermal, stomata density, trichomes density and organization of the wax layer. Two experiments were set up in Lavras, MG, in two seasons of 2011/2012. The experimental design used was the lattice 6 x 5 with three replications. Five assessments of the diseases severity were performed at ten-day intervals from 60 days after maize emergence. After that, was estimated the area under the disease progress curve (AUDPC) and the Spearman correlations therebetween with the several seasons of assessment of each disease, obtained the grain yield, taken values of thickness of the epidermal, stomata density, trichomes density to estimate the correlation of these morphological structures with the AUDPC of white spot, grey spot and common rust, as well as, evaluated the organization of the wax layer. It was found that the hybrids GNZ9626 PRO e GNZ9501 PRO present high grain yield and satisfactory level of resistance to the white spot, grey spot and common rust; the assessment of the level of resistance to these diseases should be done in the period which comprises 80 and 100 days after plants emergence, which provides similar results to AUDPC; in the conditions studied there is no association between the level of resistance to these diseases and the morphological structures thickness of the epidermal, stomata density, trichomes density and organization of the wax layer of maize hybrids.

Keywords: *Zea mays* L. AUDPC. Season of Assessment. Structural Mechanisms of Defense.

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|----------|--|----|
| Figura 1 | Produtividade média de grãos de milho e tipos de híbridos norte-americanos, 1865 a 2004 | 19 |
| Figura 2 | Eletromicrografias de varredura mostrando a camada de cera da superfície abaxial de folhas de híbridos de milho representantes dos níveis de resistência à mancha-branca | 52 |
| Figura 3 | Eletromicrografia de varredura mostrando a camada de cera da superfície abaxial de folhas de híbridos de milho representantes dos níveis de resistência à cercosporiose..... | 53 |
| Figura 4 | Eletromicrografia de varredura mostrando a camada de cera da superfície abaxial de folhas de híbridos de milho representantes dos níveis de resistência à ferrugem comum..... | 54 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|----------|---|----|
| Tabela 1 | Estimativa do progresso genético com a cultura do milho no Brasil.. | 20 |
| Tabela 2 | Descrição dos híbridos de milho utilizados, quanto à base genética e nível de resistência à mancha-branca (MB), cercosporiose (CE) e ferrugem comum (FC) | 28 |
| Tabela 3 | Resumo de análise de variância conjunta da produtividade de grãos ($t\ ha^{-1}$) e área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) obtida a partir de avaliações da severidade de mancha-branca (MB), cercosporiose (CE) e ferrugem comum (FC), em 30 híbridos de milho avaliados em dois ambientes no município de Lavras-MG | 39 |
| Tabela 4 | Valores da produtividade de grãos ($kg\ ha^{-1}$) e da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) obtida a partir de avaliações da severidade de mancha-branca (MB), cercosporiose (CE) e ferrugem comum (FC) de 30 híbridos de milho avaliados em dois ambientes no município de Lavras-MG..... | 42 |
| Tabela 5 | Resumo da análise de variância conjunta para severidade de mancha-branca, cercosporiose e ferrugem comum em 30 híbridos de milho avaliados aos 60, 70, 80, 90 e 100 dias após a emergência (DAE), em dois ambientes no município de Lavras-MG | 45 |

| | | |
|----------|--|----|
| Tabela 6 | Coeficientes de correlação de <i>Sperman</i> entre as notas provenientes da análise de variância conjunta da severidade de mancha-branca, cercosporiose e ferrugem comum aos 60, 70, 80, 90 e 100 dias após a emergência das plantas com a respectiva área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), em 30 híbridos de milho avaliados em dois ambientes no município de Lavras-MG | 46 |
| Tabela 7 | Resumo da análise de variância da avaliação da espessura da epiderme, densidade estomática e densidade de tricomas da face abaxial de folhas de híbridos de milho representantes de cinco níveis de resistência à mancha-branca, cercosporiose e ferrugem comum..... | 47 |
| Tabela 8 | Valores da espessura da epiderme (EE), densidade estomática (DE) e densidade de tricomas (DT) obtidos a partir da avaliação da face abaxial de folhas de híbridos de milho representantes de cinco níveis de resistência à mancha-branca, cercosporiose e ferrugem comum | 49 |
| Tabela 9 | Coeficiente de correlação de <i>Sperman</i> da área abaixo da curva de progresso das doenças mancha-branca, cercosporiose e ferrugem comum com a espessura da epiderme, densidade estomática e densidade de tricomas | 50 |

SUMÁRIO

| | | |
|--------------|---|----|
| 1 | INTRODUÇÃO | 14 |
| 2 | REFERENCIAL TEÓRICO | 16 |
| 2.1 | Cultura do milho no Brasil | 16 |
| 2.2 | Considerações sobre o melhoramento genético do milho | 17 |
| 2.3 | Mancha-branca do milho | 20 |
| 2.4 | Cercosporiose do milho | 22 |
| 2.5 | Ferrugem comum do milho | 24 |
| 2.6 | Resistência genética de plantas a patógenos | 25 |
| 3 | MATERIAL E MÉTODOS | 28 |
| 3.1 | Ambientes | 28 |
| 3.2 | Híbridos utilizados | 28 |
| 3.3 | Condução e avaliação dos experimentos | 30 |
| 3.4 | Preparo das amostras para a microscopia eletrônica de varredura | 31 |
| 3.5 | Análises estatísticas | 33 |
| 3.5.1 | Análise dos dados da produtividade de grãos e da reação às doenças | 33 |
| 3.5.2 | Análise dos dados das épocas de avaliação das doenças | 35 |
| 3.5.3 | Análise dos dados dos caracteres ultraestruturais | 36 |
| 4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 38 |
| 4.1 | Produtividade de grãos e reação às doenças | 38 |
| 4.2 | Épocas de avaliação das doenças | 43 |
| 4.3 | Caracteres ultraestruturais | 46 |
| 5 | CONCLUSÕES | 55 |
| | REFERÊNCIAS | 56 |
| | ANEXOS | 67 |

1 INTRODUÇÃO

A incidência e a severidade das doenças têm aumentado significativamente ao longo dos últimos anos na cultura de milho no Brasil (GALVÃO; MIRANDA, 2008). Sendo o impacto causado por fitopatógenos na cultura, um dos principais entraves para se continuar obtendo ganhos em produtividade nos programas de melhoramento genético (PINHO et al., 2001) e também em escala comercial (ANUÁRIO DA AGRICULTURA BRASILEIRA - AGRIANUAL, 2011).

O milho está sujeito à ocorrência de aproximadamente 30 doenças (PEREIRA; CARVALHO; CAMARGO, 2005), no entanto, pela frequência e intensidade com que ocorrem em áreas agrícolas brasileiras, somente algumas apresentam importância econômica. Dentre as quais a mancha-branca, a cercosporiose e a ferrugem comum são consideradas entre as principais doenças desse cereal (CASELA; FERREIRA; PINTO, 2006). Essas doenças têm causado grandes perdas econômicas por assumir proporções epidêmicas em várias regiões brasileiras e levado genótipos suscetíveis à seca prematura, com consequente redução de 30 a 60 % na produtividade de grãos (BRANDÃO, 2002; FERNANDES; OLIVEIRA, 2000; ROLIM et al., 2007).

Com o intuito de evitar ou minimizar os danos causados por doenças na cultura do milho, a utilização de híbridos resistentes é o método mais eficiente, racional e econômico (CASELA; GUIMARÃES, 2005; REIS; CASA; BRESOLIN, 2004). Tendo isso em vista, é importante que os programas de melhoramento genético do milho, os quais são muito dinâmicos e produzem grande número de híbridos anualmente, avaliem concomitantemente a produtividade de grãos e a reação dos genótipos frente às principais doenças dessa espécie.

Além disso, é interessante que haja um melhor entendimento sobre a relação entre as estruturas morfológicas e o desempenho fitossanitário dos híbridos de milho, pois várias dessas estruturas potencialmente podem constituir-se em mecanismos de resistência estrutural, e a avaliação das mesmas pode contribuir para a elucidação da reação dos híbridos a patógenos.

Do exposto, os objetivos deste trabalho foram identificar híbridos de milho que apresentem alta produtividade de grãos e resistência à mancha-branca, cercosporiose e ferrugem comum, estimar a época de avaliação mais eficiente para mensurar a reação dos híbridos aos patógenos *Phaeospharia maydis*, *Cercospora zae maydis* e *Puccinia sorghi*, bem como, estimar o grau de associação entre o nível de resistência a essas doenças e a espessura da epiderme, densidade estomática, densidade de tricomas e organização da camada de cera presentes na face abaxial de folhas de híbridos de milho.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Cultura do milho no Brasil

O milho (*Zea mays* L.) é uma das espécies cultivadas de maior relevância na agricultura brasileira, sendo uma cultura estratégica do ponto de vista de segurança alimentar e de desenvolvimento regional.

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial desse cereal, superado apenas pelos Estados Unidos e China (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA, 2012). Na safra de 2012, foram produzidas 72,7 milhões de toneladas, o que representa mais de um terço da produção de grãos do país, em uma área de cultivo de 15,1 milhões de hectares, com produtividade média de grãos de 4,8 t ha⁻¹ (USDA, 2012). Contudo, a produtividade média de grãos brasileira é considerada baixa se comparada ao potencial da cultura, visto que em condições experimentais e em cultivos comerciais nos quais se emprega alto nível tecnológico são comumente obtidas produtividades próximas a 10 t ha⁻¹.

A cultura do milho no Brasil tradicionalmente ocupa o segundo lugar em área plantada, volume produzido e valor da produção, sendo superado apenas pela soja (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2011). No entanto, em 2012 em virtude da queda ocorrida na produção de soja (11,9%) e pela safra recorde obtida de milho, essa espécie volta a ser responsável pela maior parte da produção de grãos do país (CONAB, 2012).

O milho é cultivado em todo território nacional, sendo a produção concentrada, principalmente, nas regiões Centro-Oeste (36,81%), Sul (36,21%) e Sudeste (16,40%) (AGRIANUAL, 2013). Em Minas Gerais, o terceiro maior Estado produtor desse grão (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE, 2011), esse é o principal cereal cultivado, com destaque

para o Sul (256 mil hectares), Alto Paranaíba (208 mil hectares) e Triângulo Mineiro (192 mil hectares) (ASSESSORIA DE COMUNICAÇÃO DA EMATER/MG - ASCOM / SECRETARIA DE ESTADO DE AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO DE MINAS GERAIS - SEAPA, 2008).

O cultivo do milho no Brasil tem se caracterizado pela produção em duas épocas de semeadura (GURGEL, 2012), sendo a primeira realizada na época tradicional, durante o período chuvoso que contempla o final do mês de agosto na região Sul até novembro no Sudeste e Centro-Oeste do país. Já a segunda época, refere-se à chamada safrinha, semeada em fevereiro ou março, geralmente em sucessão com a cultura da soja na região Centro-Oeste e nos Estados do Paraná e São Paulo.

Nesse cenário, destaca-se o deslocamento temporal da produção para a segunda safra (safrinha) na região Centro-Sul do país no ano de 2012, com incremento de 23% em relação à área plantada no ano anterior (CONAB, 2012). Desse modo, do total de grãos produzidos, 47 e 53% foram provenientes da primeira e segunda safra, respectivamente (CONAB, 2012).

A área cultivada, a produtividade e a produção de grãos de milho brasileira vêm aumentando ao longo das últimas décadas (MONTEZANO; CORAZZA; MURAOKA, 2008), sendo isso atribuído à expansão da área agrícola para a região Centro-Oeste (GALVÃO; MIRANDA, 2008), adoção de modernas práticas culturais e, sobretudo aos progressos da genética e suas aplicações no melhoramento genético dessa espécie (RAMALHO et al., 2012).

2.2 Considerações sobre o melhoramento genético do milho

A contribuição da genética para o aumento da produtividade do milho tem sido objeto de alguns estudos em diversos países (PIXLEY, 2006) e estima-

se que o ganho genético seja responsável por 50 a 60% dos avanços observados no desempenho dessa cultura (DUVICK, 2005).

A utilização de milho híbrido representa um dos mais significativos exemplos de sucesso da aplicação da teoria genética à produção de alimentos (DUVICK, 2001) e a heterose, definida há mais de um século por Shull (1909), constitui uma das maiores contribuições práticas da genética para a agricultura mundial. A heterose tem permitido expressivos aumentos na produtividade dessa cultura e com repercussão no melhoramento de diversas espécies cultivadas (HALLAUER, 1990).

No intuito de quantificar o progresso genético proporcionado pela utilização de milho híbrido na agricultura norte-americana, vários foram os trabalhos conduzidos (DUVICK, 1994; TROYER, 2006). Segundo Troyer (2006), a produtividade média de grãos passou de $1,5 \text{ t ha}^{-1}$, nos anos de 1930, quando o milho híbrido tornou-se disponível comercialmente para $10,0 \text{ t ha}^{-1}$ em 2005, com 22% a menos de área plantada. No decorrer desse tempo, o aumento na produtividade de grãos foi de $63,1 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$, no período de 1930 a 1960, associada aos híbridos duplos; de $110,4 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$, no período de 1960 a 1999, associada aos híbridos simples e de $207,2 \text{ kg ha}^{-1} \text{ ano}^{-1}$, no período de 1995 a 2004, associada aos híbridos transgênicos (Figura 1).

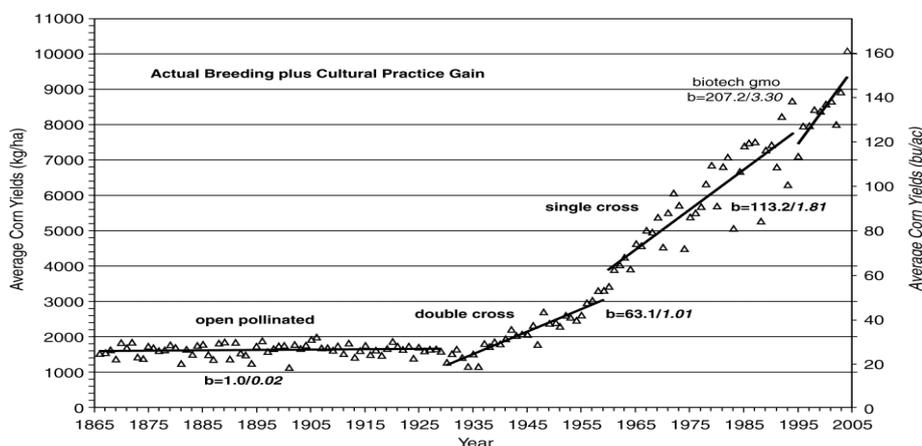


Figura 1 Produtividade média de grãos de milho e tipos de híbridos norte-americanos, 1865 a 2004

Fonte: Troyer (2006)

Os incrementos em produtividade de grãos obtidos por programas de melhoramento do milho no Brasil também têm sido relevantes, tal como apresentados na tabela 1. As contribuições do melhoramento genético e o aperfeiçoamento do manejo fitotécnico dessa cultura permitiram que a produtividade média de grãos nacional passasse de 2.194 kg ha^{-1} para 4.818 kg ha^{-1} , nos últimos 20 anos (CONAB, 2012).

Nesse contexto, ao longo de muitas décadas, a seleção de híbridos superiores em programas de melhoramento do milho no Brasil foi conduzida concentrando esforços principalmente na obtenção de ganhos em produtividade, com poucas iniciativas na avaliação simultânea da reação desses híbridos à população de patógenos, o que favoreceu a perda de alelos de resistência nessa espécie (MESQUITA NETO, 2000). Concomitantemente a isso, algumas áreas de cultivo têm favorecido a multiplicação e preservação de inóculos de patógenos, devido à utilização de irrigação, sucessão de culturas com o plantio de milho em safrinha, adoção do sistema de plantio direto, ausência de rotação

de culturas e expansão da área agrícola para a região Centro-Oeste (GALVÃO; MIRANDA, 2008).

Tabela 1 Estimativa do progresso genético com a cultura do milho no Brasil

| Período | Aumento na produtividade (kg ha ⁻¹ ano ⁻¹)* | Autores |
|-----------|---|--|
| 1964-1983 | 72-109 (PE) | (VENCOVSKY et al., 1986) |
| 1970-1990 | 31-51 (PG) | (ARAÚJO, 1995) |
| 1964-1993 | 123 (PE) | (FERNANDES; FRANZON, 1997) |
| 1998-2002 | 175 (PG) | (STORCK; BISOGNIN; CARGNELUTTI FILHO, 2005) |

*PE – peso de espigas; PG – peso de grãos.

Dessa forma, o milho antes considerado uma planta rústica do ponto de vista fitossanitário, tornou-se vulnerável a partir do início da década de 90, quando as doenças tornaram-se mais frequentes e severas nesse cereal, passando a limitar o desempenho produtivo de vários híbridos nacionais (AGRIANUAL, 2011; DUARTE; JULIATTI; FREITAS, 2009). Com destaque para a mancha-branca, cercosporiose e ferrugem comum do milho (CASELA; FERREIRA; PINTO, 2006).

2.3 Mancha-branca do milho

A mancha-branca foi inicialmente relatada na cultura do milho em 1965 por Rane, na Índia, tendo como agente etiológico o fungo *Phaeosporium maydis* (RANE; PAYAK; RENFRO, 1965). No Brasil, a partir do início da década de 1980, essa doença passou a ser observada em campos de produção de milho e

em estudo realizado por Fantin, Sawazaki e Barros (1991), o fungo *Phaeospharia maydis* foi descrito como o causador dessa enfermidade, tal como citado anteriormente por Rane, Payak e Renfro (1965).

No entanto, após análises citológicas de lesões em estágio inicial Paccola Meirelles et al. (2001), isolaram com frequência elevada (63%), uma bactéria gram-negativa de coloração amarelo-brilhante, identificada como *Pantoea ananatis*, sugerindo que o fungo *Phaeospharia maydis* não é o patógeno primário dessa doença e que o mesmo se estabelece após a infecção bacteriana. Já Amaral et al. (2002), relatam os fungos *Phyllosticta* sp, *Phoma sorghina* e *Sporormiella* sp., como estando conjuntamente associados à etiologia dessa enfermidade e que cada um deles tem sua frequência variável nas lesões devido às condições ambientais presentes durante o cultivo desse cereal. Assim, o agente causal da mancha-branca do milho está em discussão pela comunidade científica e a etiologia da mesma ainda é controversa (COSTA; CASELA; COTA, 2009).

Os sintomas apresentam-se na forma de lesões foliares em número variável, circulares e elípticas que sob condições favoráveis podem levar a senescência precoce das folhas, reduzindo o ciclo e a produtividade do milho, sendo que a quantidade e o tamanho das lesões variam bastante entre os diferentes genótipos (PACCOLA MEIRELLES et al., 2001).

A doença não ocorre nos primeiros estádios de desenvolvimento do milho, em condições favoráveis os sintomas tornam-se visíveis à medida que as plantas aproximam-se do florescimento (MANERBA, 2010). As lesões iniciam-se com o aparecimento nas folhas baixas de manchas cloróticas de aspecto aquoso do tipo anasarca, as quais tornam-se necróticas de coloração palha e com bordas bem definidas de cor marrom-escuras (PEREIRA; CARVALHO; CAMARGO, 2005). Porém, progridem rapidamente para o ápice da planta,

podendo infectar o colmo, folhas, pecíolo das folhas e brácteas das espigas (SIBIYA et al., 2011).

A condição ambiental favorável para a mancha-branca consiste em temperaturas variando entre 25 e 30⁰ C, associado a longos períodos de alta umidade relativa do ar (SILVA; SCHIPANSKI, 2007). O fungo *Phaeospharia maydis* é necrotrófico, podendo permanecer em restos de cultura, incrementando o potencial de inóculo para anos posteriores em áreas de plantio direto (REIS; CASA; BRESOLIN, 2004).

Os danos causados por essa enfermidade podem ser significativos ocasionando perdas na produção que variam de 11 a 60%, de acordo com estudos realizados nos EUA e Brasil (CARSON, 2005; PACCOLA MEIRELLES et al., 2001).

A resistência genética à mancha-branca apresenta predominantemente ação gênica aditiva, sendo essa resistência do tipo horizontal (LOPES et al., 2007).

2.4 Cercosporiose do milho

A Cercosporiose foi inicialmente descrita na cultura do milho (*Zea mays L.*), em Illinois, EUA, em 1925 (TEHON; DANIELS, 1925). No Brasil, foi relatada pela primeira vez em 1934 por Viégas e Krug em Campinas, no Estado de São Paulo (VIÉGAS, 1945). Durante um longo período foi considerada doença secundária, pela sua ocorrência esporádica e com baixa severidade (FANTIN et al., 2001). Contudo, isso mudou no início do ano 2000, quando foram relatadas epidemias severas dessa enfermidade em campos de produção no Sudoeste de Goiás e em safras seguintes, foram alastradas para toda a região Centro-Sul do país (JULIATTI; BRANDÃO, 2000).

Os primeiros sintomas da doença são observados geralmente na fase de florescimento, principalmente nas folhas baixas (WARD et al., 1999), onde o patógeno inicia a colonização do limbo foliar, podendo provocar extensas áreas necróticas. Essa enfermidade caracteriza-se pelo aspecto linear-retangular das lesões que são geralmente delimitadas pelas nervuras. As manchas possuem coloração palha e sob condições de alta umidade relativa, tornam-se cobertas por esporos, conferindo-as uma coloração acinzentada (PEREIRA; CARVALHO; CAMARGO, 2005).

A etiologia da doença é associada a duas espécies fúngicas, a *Cercospora zea maydis* e a *Cercospora sorghi* (CHUPP, 1953). A ocorrência de ambas as espécies é relatada em várias áreas produtoras de milho no Brasil (FANTIN et al., 2001). No entanto, a *C. sorghi* é um patógeno pouco eficiente na colonização dos tecidos foliares, proporcionando sintomas mais brandos, circundado por halos cloróticos e com pequena produção de esporos (CHUPP, 1953; WARD et al., 1999). Já a espécie *C. zea maydis*, coloniza de forma mais eficiente o hospedeiro, geralmente sem halo clorótico e produz grande quantidade de esporos (LATTERELL; ROSSI, 1983). Com isso, as recentes epidemias da doença foram atribuídas à espécie *C. zea maydis* (JULIATTI; BRANDÃO, 2000).

A condição ambiental favorável para a cercosporiose consiste em temperaturas que oscilam entre 25 e 30 °C, associado com longos períodos de umidade relativa do ar e com ausência de água livre sobre a folha (WARD et al., 1999).

O fungo *C. zea maydis* infecta apenas o milho não havendo relatos de que seja transmitido por semente (RICHARDSON, 1990). Trata-se de um fungo necrotrófico, sendo assim capaz de sobreviver em restos de cultura presentes na superfície do solo, o que favorece o potencial de inóculo para os próximos anos em áreas de plantio direto (NAZARENO; LIPPS; MADDEN, 1992).

Os danos causados pela cercosporiose do milho podem ser significativos ocasionando perdas na produção que variam de 25 a 65%, de acordo com observações realizadas nos EUA e Brasil (BRITO et al., 2007; WARD et al., 1999).

Estudos relacionados à determinação do tipo de ação gênica envolvida na resistência à cercosporiose têm concluído que a ação gênica aditiva é predominante (DERERA et al., 2008) e que vários locos controladores de caracteres quantitativos (*QTLs*) estão associados à resistência, demonstrando tratar-se de resistência do tipo horizontal (BUBECK et al., 1993).

2.5 Ferrugem comum do milho

Dentre as ferrugens que infectam a cultura do milho no Brasil, a ferrugem comum foi a primeira a ser relatada e devido a sua maior relevância econômica ela é a mais estudada (BRANDÃO et al., 2003). Essa doença é causada pelo fungo *Puccinia sorghi*, o qual encontra-se disseminado por todas as regiões brasileiras nas quais o milho é cultivado (FERNANDES; OLIVEIRA, 2000).

No Brasil, essa doença ocorre com maior severidade na região Sul devido à ocorrência de clima mais ameno, sendo a esporulação do fungo estimulada por temperaturas entre 17 e 25⁰ C, acompanhada de elevada umidade relativa do ar (MESQUITA NETO, 2000). Porém, dependendo da suscetibilidade da cultivar adotada, essa enfermidade pode também causar perdas significativas em áreas cujas temperaturas são mais elevadas, tais como a região Centro-Oeste (PEREIRA, 1995).

Essa doença rompe a epiderme e os sintomas são caracterizados por pústulas em forma de fendas, predominantemente alongadas, de aspecto

pulverulento, presentes em ambas as faces da folha, de coloração marrom-clara a marrom-escura (PEREIRA; CARVALHO; CAMARGO, 2005).

O fungo *Puccinia sorghi* é um patógeno biotrófico, apresenta ciclo completo, tendo como hospedeiro alternativo no Brasil o trevo (*Oxalis* sp.), onde sobrevive na ausência do milho no campo.

Apesar dessa doença ser geralmente iniciada em um período mais tardio, quando as plantas se aproximam do florescimento é considerada de maior relevância em cultivares de milho doce e milho pipoca, são relatadas perdas superiores a 30% em cultivares suscetíveis de milho duro e de milho dentado (BRANDÃO et al., 2003).

A resistência do milho ao fungo *Puccinia sorghi* geralmente é caracterizada por uma reação de hipersensibilidade que resulta em manchas cloróticas com pouca ou nenhuma esporulação do patógeno (PATAKY; CAMPANA, 2007). A resistência a essa enfermidade é descrita com sendo do tipo horizontal ou vertical, com predominância de efeitos aditivos ou de dominância, respectivamente (WISSER; BALINT; NELSON, 2006).

2.6 Resistência genética de plantas a patógenos

A resistência genética de plantas a patógenos é considerada como a habilidade do hospedeiro em prevenir ou retardar a entrada e a subsequente atividade destes microrganismos em seus tecidos, em um processo dinâmico, coordenado e dependente da existência de mecanismos de proteção estruturais e/ou bioquímicos (PASCHOLATI; LEITE, 1995).

Os mecanismos de proteção bioquímicos são caracterizados por reações químicas que produzem substâncias tóxicas aos patógenos ou criam condições adversas ao crescimento desses no interior do hospedeiro. Ao passo que, os mecanismos de proteção estruturais atuam como barreiras físicas, impedindo a

entrada do patógeno e a subsequente colonização dos tecidos (SCHWAN-ESTRADA; STANGARLIN; PASCHOLATI, 2008).

Esses mecanismos de proteção são bastante complexos e foram desenvolvidos em plantas superiores ao longo da evolução das mesmas, principalmente por meio da ocorrência de mutações e da ação da seleção natural (RESENDE et al., 2008). Eles são subdivididos, considerando-se um particular mecanismo é operativo antes da infecção (mecanismo pré-formado) ou depois da instalação do processo infeccioso (mecanismo pós-formado) (STANGARLIN et al., 2011).

Os mecanismos de defesa bioquímicos pós-formados correspondem a compostos antimicrobianos produzidos ou ativados em resposta à presença dos patógenos ou a moléculas eliciadoras desses derivados, recebem a denominação geral de fitoalexinas, as quais são metabólitos secundários de baixo peso molecular, de natureza não proteica e com ampla atividade antimicrobiana (FERREIRA et al., 2007). Já os mecanismos de resistência bioquímicos pré-formados correspondem a substâncias prejudiciais aos patógenos previamente existentes no hospedeiro, tais como fenóis, alcaloides, lactonas insaturadas e glicosídeos (RESENDE et al., 2008).

Os mecanismos de resistência estruturais pós-formados são desencadeados após o estabelecimento da interação patógeno-hospedeiro, momento em que se podem observar novas barreiras, como as reações citoplasmáticas, papilas e tiloses (ALVES, 2007). Em contrapartida, os mecanismos de defesa estruturais pré-formados estão presentes na planta antes mesmo do contato desses organismos com os patógenos e determinarão o avanço ou não dos fitopatógenos na superfície do hospedeiro. São exemplos dessas estruturas de defesa a espessura e organização da camada de cera, espessura da epiderme, densidade de estômatos e tricomas, bem como, a presença de camadas lignificadas nos tecidos vegetais (DIANESE, 1990).

Nesse contexto, percebe-se que algumas estruturas morfológicas potencialmente podem constituir-se em importantes mecanismos de proteção estrutural e o entendimento do grau de associação dessas estruturas com o nível de resistência a doenças pode contribuir para a elucidação da reação das plantas aos patógenos. Contudo, para a cultura do milho são escassos os trabalhos disponíveis na literatura que tratam deste assunto.

Tendo em vista que, para este tipo de abordagem é necessário o emprego de equipamentos que permitam o aumento dessas estruturas morfológicas, as quais são microscópicas. A microscopia eletrônica de varredura (MEV) é uma técnica que tem sido estimulada, devido aos grandes avanços proporcionados no entendimento da resistência, como atuam e quais são os mecanismos estruturais de defesa (ALVES, 2007).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Ambientes

Os experimentos foram instalados em dois locais no município de Lavras - MG, na safra agrícola 2011/2012. O primeiro no dia 17 de novembro na área experimental do Departamento de Biologia da UFLA (DBI/UFLA), situado a 915 metros de altitude, 21°13'32'' de latitude Sul e 44°58'55'' de longitude Oeste. O segundo foi semeado após 30 dias, na propriedade particular Xavier, localizada a 865 m de altitude, nas coordenadas 21°13'48'' latitude Sul e 45°04'54'' longitude Oeste.

3.2 Híbridos utilizados

Foram avaliados 30 híbridos de milho, sendo 15 comerciais e 15 em fase final de avaliação do programa de melhoramento genético do DBI/UFLA (Tabela 2).

Tabela 2 Descrição dos híbridos de milho utilizados, quanto à base genética e nível de resistência à mancha-branca (MB), cercosporiose (CE) e ferrugem comum (FC)

| Híbridos | Base Genética ⁽¹⁾ | MB ⁽²⁾ | CE ⁽²⁾ | FC ⁽²⁾ | Empresa |
|-----------------|------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|----------|
| Maximus Viptera | HS | MR | MR | MR | Syngenta |
| GNZ9501 PRO | HS | R | R | R | Geneze |
| GNZ9506 PRO | HS | R | MR | MR | Geneze |
| GNZ9505 PRO | HS | MS | MS | MR | Geneze |

“Tabela 2, continuação”

| Híbridos | Base Genética ⁽¹⁾ | MB ⁽²⁾ | CE ⁽²⁾ | FC ⁽²⁾ | Empresa |
|-------------|------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------|
| GNZ9626 PRO | HS | R | MR | R | Geneze |
| GNZ9688 PRO | HS | R | R | R | Geneze |
| DKB 390 | HS | R | MS | MS | Dekalb |
| AG4051 | HT | R | R | S | Agroceres |
| P30F90 | HS | MS | S | MR | Pioneer |
| P30F80 H | HS | MS | S | MR | Pioneer |
| P30F87 | HT | MR | MR | MR | Pioneer |
| P32R22 H | HS | S | S | MS | Pioneer |
| 30P70 H | HS | S | MR | S | Pioneer |
| BM3061 | HT | MS | MR | MR | Biomatrix |
| BM207 | HD | MR | MR | MS | Biomatrix |
| BIO 001 | HD | SI | SI | SI | UFLA |
| BIO 002 | HT | SI | SI | SI | UFLA |
| BIO 003 | HD | SI | SI | SI | UFLA |
| BIO 004 | HD | SI | SI | SI | UFLA |
| BIO 005 | HI | SI | SI | SI | UFLA |
| BIO 006 | HT | SI | SI | SI | UFLA |
| BIO 007 | HT | SI | SI | SI | UFLA |
| BIO 008 | HS | SI | SI | SI | UFLA |
| BIO 009 | HT | SI | SI | SI | UFLA |
| BIO 010 | HT | SI | SI | SI | UFLA |
| BIO 011 | HT | SI | SI | SI | UFLA |
| BIO 012 | HD | SI | SI | SI | UFLA |
| BIO 013 | HT | SI | SI | SI | UFLA |

“Tabela 2, conclusão”

| Híbridos | Base Genética ⁽¹⁾ | MB ⁽²⁾ | CE ⁽²⁾ | FC ⁽²⁾ | Empresa |
|----------|------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|---------|
| BIO 014 | HD | SI | SI | SI | UFLA |
| BIO 015 | HT | SI | SI | SI | UFLA |

Nota: De acordo com informações das empresas/instituições produtoras de sementes.

⁽¹⁾HS= híbrido simples; HD= híbrido duplo; HT= híbrido triplo; HI= híbrido intervarietal.

⁽²⁾Reação às doenças, sendo: S = suscetível, MS = moderadamente suscetível, MR = moderadamente resistente, R= resistente e SI= sem informação.

3.3 Condução e avaliação dos experimentos

Os experimentos foram conduzidos no sistema de plantio direto, em áreas nas quais se tem plantado milho após milho durante várias safras.

O delineamento experimental utilizado foi o látice triplo 6 x 5, sendo as parcelas constituídas por quatro linhas de três metros, espaçadas 0,6 m entre linhas e 0,25 m entre plantas, com estande de aproximadamente 66.666 plantas ha⁻¹. Contudo, para a coleta dos dados foram consideradas somente as duas fileiras centrais como úteis.

Na semeadura de ambos os experimentos foram utilizados 350 kg ha⁻¹ do formulado 08-28-16 (N, P₂O₅, K₂O). Em cobertura, aplicou-se 200 kg ha⁻¹ de sulfato de amônio no estágio fenológico V3 e 200 kg ha⁻¹ de ureia no estágio V6. Os demais tratos culturais foram realizados de acordo com as recomendações técnicas para a cultura do milho na região Sul de Minas Gerais (GROSS; PINHO; BRITO, 2006).

Os experimentos foram conduzidos sob condições de incidência natural dos patógenos, porém com o intuito de aumentar o potencial de inóculo nas áreas experimentais, foi semeado o híbrido P30F53 (moderadamente suscetível

às três doenças avaliadas) em bordadura e em faixas de um metro de comprimento nas extremidades de cada bloco.

Na avaliação do nível de resistência dos híbridos de milho, foram utilizados os dados de severidade (notas) das doenças considerando-se toda a área de parcela útil, obtidos com o auxílio da escala diagramática proposta pela Agroceres (1996). As notas dessa escala variam de 1 a 9, sendo que 1 = 0% de doença, 2 = 0,5%, 3 = 10%, 4 = 30%, 5 = 50%, 6 = 70%, 7 = 80%, 8 = 90% e 9 = 100% de área da folha lesionada (Anexo 1A). Foram realizadas cinco avaliações, em intervalos de dez dias, a partir de sessenta dias após a emergência das plantas.

Em ambos os experimentos foram avaliados a produtividade de grãos, obtida em kg parcela⁻¹ e posteriormente, convertida para kg ha⁻¹, utilizando a área útil da parcela, 3m x 1,2m, que corresponde a 3,6 m². Sendo os dados referentes a esse caráter corrigidos para a umidade padrão de 13% (Brasil, 2009).

3.4 Preparo das amostras para a microscopia eletrônica de varredura

Para o estudo ultraestrutural, foi utilizado o microscópio eletrônico de varredura LEO Evo 40 do Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultraestrutural da UFPA. Para tanto, aos 60 dias após a emergência das plantas de milho, no segundo ambiente, foi coletado um fragmento na região mediana da primeira folha acima da espiga em uma das plantas presente na área central da porção considerada útil de cada parcela.

Com base nos resultados dos experimentos conduzidos em campo, os híbridos foram discriminados em cinco níveis de resistência à mancha-branca, cercosporiose e ferrugem comum. Sendo considerado a= altamente resistente

(AR); b= resistente (R); c= moderadamente resistente (MR); d= moderadamente suscetível (MS); e= suscetível (S), tal como proposto por Juliatti e Souza (2005).

Posteriormente, foi selecionado um híbrido simples referente a cada um desses níveis de resistência para que os fragmentos vegetais provenientes dos mesmos viessem a ser preparados de acordo com o procedimento empregado por Alves (2004). Tal procedimento consistiu em colocar os tecidos vegetais em fixador primário *Karnovsky* modificado (Glutaraldeído 2,5%, Formaldeído 2,5%, em tampão cacodilato de sódio 0,05M pH 7,2 e CaCl_2 0,001 M), onde foram mantidos por cinco meses. Após isso, os fragmentos de cada híbrido foram subdivididos utilizando um bisturi e metade dos mesmos conduzidos à série de três lavagens em tampão cacodilato de sódio 0,05M e transferidos para glicerol 30%, onde ficaram por 30 minutos. Subseqüentemente foram imersos em nitrogênio líquido e submetidos à fratura sobre uma superfície metálica resfriada com nitrogênio líquido.

Os fragmentos foliares provenientes de cada um dos híbridos, nos quais empregou-se o método de corte transversal em nitrogênio líquido e aqueles que ainda se encontravam imersos em fixador primário, foram submetidos à fixação secundária em tetróxido de ósmio 1% em tampão cacodilato 0,05M pH 7,2, por uma hora. Posteriormente, esses fragmentos foram lavados em água destilada por três vezes para serem submetidos à desidratação em série de acetona. O tempo de exposição dos híbridos às soluções foi de 10 minutos para cada concentração de acetona, em ordem crescente de concentração, sendo que a primeira exposição foi na solução a 25%, posteriormente 50%, 75%, 90% e por último, mais três exposições de 10 minutos cada, em solução acetona a 100%. Uma vez desidratado, os híbridos foram submetidos à etapa de secagem ao ponto crítico e posterior banho de ouro. Com isso, as amostras foram conduzidas para o microscópio eletrônico de varredura para a geração das imagens.

Neste momento, na face abaxial das folhas de milho foram tomadas medidas da espessura da epiderme, densidade estomática, densidade de tricomas e avaliada a organização da camada de cera. Sendo avaliadas três repetições por híbrido e utilizado um aumento de 400 vezes para avaliar a densidade estomática e a densidade de tricomas, 800 vezes para mensurar a espessura da epiderme e 3.000 vezes para avaliar a organização da camada de cera.

3.5 Análises estatísticas

3.5.1 Análise dos dados da produtividade de grãos e da reação às doenças

As notas de severidade das doenças obtidas nas cinco avaliações foram utilizadas para estimar o progresso da mancha-branca, cercosporiose e ferrugem comum na cultura do milho. Para isso, foi calculada a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), tal como proposto por Campbell e Madden (1990).

Os dados da AACPD e da produtividade de grãos foram submetidos à análise de variância individual, considerando todos os efeitos fixos, exceto o erro experimental, a partir do modelo estatístico, equação (1).

$$Y_{ijk} = m + t_i + r_k + b_{j(k)} + e_{(ijk)} \quad (1)$$

Em que:

Y_{ijk} : valor do híbrido i no bloco j dentro da repetição k ;

m : média geral do experimento;

t_i : efeito do híbrido i ($i = 1 \dots 30$);

r_k : efeito da repetição k ($k = 1, 2, 3$);

$b_{j(k)}$: efeito do bloco j dentro da repetição k (j =1...6);

$e_{(ijk)}$: erro experimental associado à observação Y_{ijk} .

As variâncias do erro dos dados de AACPD e da produtividade de grãos foram submetidas ao teste de Hartley (NETER; WASSERMAN, 1974). Mediante homogeneidade das mesmas, foi realizada a análise de variância conjunta envolvendo os dois ambientes, considerando todos os efeitos fixos, exceto o erro experimental, a partir do modelo estatístico, equação (2),

$$Y_{ijkp} = m + t_i + a_p + r_{k(p)} + b_{j(kp)} + ta_{ip} + e_{(ijkp)} \quad (2)$$

Em que:

Y_{ijkp} : valor do híbrido i no bloco j dentro da repetição k e ambiente p;

m: média geral do experimento;

t_i : efeito do híbrido i (i =1...30);

a_p : efeito do ambiente p (a =1 e 2);

$r_{k(p)}$: efeito da repetição k dentro do ambiente p (k =1, 2, 3);

$b_{j(kp)}$: efeito do bloco j dentro da repetição k e no ambiente p (j =1...6);

$ta_{(ip)}$: efeito da interação híbridos x ambientes;

$e_{(ijkp)}$: erro experimental associado à observação Y_{ijkp} .

As análises de variância foram efetuadas utilizando o *software* SAS (SAS INSTITUTE INC, 2000). As médias dos híbridos foram agrupadas pelo teste de Scott e Knott (1974), a 5% de probabilidade, com o uso do *software* GENES (CRUZ, 2001).

3.5.2 Análise dos dados das épocas de avaliação das doenças

Nesse caso foi adotada a metodologia proposta por Lopes et al. (2011), em que os dados da severidade de cada uma das doenças em cada época de avaliação foram submetidos à análise de variância individual, considerando todos os efeitos fixos, exceto o erro experimental, a partir do modelo estatístico, equação (3).

$$Y_{ijk} = m + t_i + r_k + b_{j(k)} + e_{(ijk)} \quad (3)$$

Em que:

Y_{ijk} : valor do híbrido i no bloco j dentro da repetição k ;

m : média geral do experimento;

t_i : efeito do híbrido i ($i = 1 \dots 30$);

r_k : efeito da repetição k ($k = 1, 2, 3$);

$b_{j(k)}$: efeito do bloco j dentro da repetição k ($j = 1 \dots 6$);

$e_{(ijk)}$: erro experimental associado à observação Y_{ijk} .

Posteriormente, as variâncias do erro das épocas de avaliação foram submetidas ao teste de Hartley (NETER; WASSERMAN, 1974) e, mediante homogeneidade das mesmas, foi realizada a análise de variância conjunta referente a cada época de avaliação envolvendo os dois ambientes, considerando todos os efeitos fixos, exceto o erro experimental, a partir do modelo estatístico, equação (4).

$$Y_{ijkp} = m + t_i + a_p + r_{k(p)} + b_{j(kp)} + ta_{(ip)} + e_{(ijkp)} \quad (4)$$

Em que:

Y_{ijkp} : valor do híbrido i , no ambiente p , bloco j dentro da repetição k ;

m : média geral do experimento;

t_i : efeito do híbrido i ($i = 1 \dots 30$);

a_p : efeito do ambiente p ($p=1$ e 2);

$r_{k(p)}$: efeito da repetição k dentro do ambiente p ($k = 1, 2, 3$);

$b_{j(kp)}$: efeito do bloco j dentro da repetição k e do ambiente p ($j = 1, 2, 3 \dots 6$);

$ta_{(ip)}$: efeito da interação híbridos x ambientes;

$e_{(ijkp)}$: erro experimental associado à observação Y_{ijkp} .

Foram obtidas as estimativas da correlação classificatória de *Sperman* (STELL, TORRIE, 1980) entre cada época de avaliação da severidade de mancha-branca, cercosporiose e ferrugem comum com a respectiva AACPD, utilizando o *software* SAS (SAS INSTITUTE INC, 2000).

3.5.3 Análise dos dados dos caracteres ultraestruturais

Os dados da mensuração da espessura da epiderme, densidade estomática e densidade de tricomas obtidos a partir da avaliação dos híbridos de milho altamente resistente (AR), resistente (R), moderadamente resistente (MR), moderadamente suscetível (MS) e suscetível (S) à mancha-branca, cercosporiose e ferrugem comum foram submetidos à análise de variância, na qual foram considerados todos os efeitos fixos, exceto o erro experimental, de acordo com o seguinte modelo estatístico, equação (5).

$$Y_{ij} = m + t_i + e_{(ij)} \quad (5)$$

Em que:

Y_{ij} : valor do híbrido i na repetição j ;

m : média geral do experimento;

t_i : efeito do híbrido i ($i = 1, 2, \dots, 5$);

$e_{(ij)}$: erro experimental associado à observação Y_{ij} .

Posteriormente, as médias dos híbridos foram agrupadas pelo teste de Scott e Knott (1974), a 5% de probabilidade, com o uso do *software* GENES (CRUZ, 2001), também foram obtidas às estimativas da correlação classificatória de *Sperman* (STELL, TORRIE, 1980) entre os dados da AACPD de mancha-branca, cercosporiose e ferrugem comum com a espessura da epiderme, número de estômatos e número de tricomas. Para tanto, foi utilizado o *software* SAS (SAS INSTITUTE INC, 2000).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Produtividade de grãos e reação às doenças

Na análise de variância conjunta para os dados de produtividade de grãos, envolvendo dois ambientes no município de Lavras - MG, observou-se significância da fonte da variação - híbridos (Tabela 3). Isso evidencia que pelo menos um dos híbridos apresentou desempenho diferente dos demais quanto à produtividade de grãos, fato esse esperado, visto que, os híbridos apresentam diferentes constituições genéticas.

A fonte de variação - ambientes - também foi significativa (Tabela 3), o que é justificado pelas diferenças nas condições edafoclimáticas presentes entre os dois ambientes de condução dos experimentos.

A interação - híbridos x ambientes - foi não significativa (Tabela 3), mostrando que o comportamento dos híbridos foi consistente em ambos os ambientes, o que facilita a indicação dos melhores híbridos para o cultivo na região.

Tabela 3 Resumo de análise de variância conjunta da produtividade de grãos ($t\ ha^{-1}$) e área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) obtida a partir de avaliações da severidade de mancha-branca (MB), cercosporiose (CE) e ferrugem comum (FC), em 30 híbridos de milho avaliados em dois ambientes no município de Lavras - MG

| Fonte de variação | GL | Quadrados Médios | | | |
|----------------------|----|----------------------|--------------------|--------------------|-------------------------------|
| | | MB | CE | FC | Produtividade |
| | | (AACPD x 10^{-3}) | | | ($kg\ ha^{-1}\ x\ 10^{-6}$) |
| Híbridos | 29 | 12.66** | 9,05** | 8,51** | 12,15** |
| Ambientes | 1 | 28,37** | 17,90** | 36,69** | 25,20* |
| Híbridos x Ambientes | 29 | 0,53 ^{NS} | 0,42 ^{NS} | 1,25 ^{NS} | 2,23 ^{NS} |
| Resíduo | 86 | 0,36 | 0,40 | 0,84 | 2,36 |
| Média Geral | | 144,00 | 121,14 | 135,11 | 9.562 |
| CV (%) | | 13,31 | 16,54 | 21,53 | 16,07 |

^{NS}, *, ** = não significativo, significativo a 5% e 1%, respectivamente, pelo teste F.

A precisão experimental, avaliada pelo coeficiente de variação experimental, foi de 16,07% (Tabela 3), o que é considerado por Pimentel Gomes (2000) como de média magnitude.

Considerando os dois ambientes, a produtividade média foi de 9.562 $kg\ ha^{-1}$ (Tabela 3), a qual reflete o grande potencial genético dos híbridos utilizados e o alto nível tecnológico adotado no manejo das áreas experimentais.

A análise de variância conjunta para os dados de AACPD de mancha-branca, cercosporiose e ferrugem comum, mostra que houve diferenças significativas para a fonte de variação - híbridos - nas três doenças avaliadas (Tabela 3). Isso demonstra que há diferença entre os 30 híbridos avaliados quanto à reação à *Phaeospharia maydis*, *Cercospora zea maydis* e *Puccinia sorghi*.

A fonte de variação - ambientes - foi significativa para as três doenças avaliadas (Tabela 3). Considerando que as condições climáticas influenciam o progresso dessas doenças, o intervalo de 30 dias entre a instalação dos dois experimentos pode ter contribuído para intensificar as diferenças entre os

ambientes (Tabela 4A). O plantio de experimentos em épocas diferentes é comum na experimentação agrícola quando avalia-se doenças em condição de incidência natural dos patógenos (BRITO et al., 2007; JULLIATI; SOUZA, 2005; LOPES et al., 2011). Isso aumenta a probabilidade dos ambientes apresentarem condições favoráveis para que a severidade das doenças ocorra em níveis suficientes para a discriminação dos genótipos quanto ao nível de resistência.

A interação - híbridos x ambientes - considerando as três doenças avaliadas foi não significativa (Tabela 3), ou seja, o comportamento dos híbridos foi consistente nos ambientes avaliados. Esses resultados corroboram com o fato da resistência à mancha-branca e à cercosporiose ser do tipo horizontal (BUBECK et al., 1993; LOPES et al., 2007), na qual a interação patógeno-hospedeiro é menos específica. Além disso, provavelmente ocorreram populações dos patógenos geneticamente semelhantes entre si nos ambientes avaliados. No caso da resistência à ferrugem comum do milho, a mesma pode ser do tipo horizontal ou vertical (WISSER et al., 2006). Assim, é esperado que a expressão de resistência tenha sido do tipo horizontal, justificada pelas mesmas razões apresentadas para a mancha-branca e para a cercosporiose ou pode ter ocorrido o chamado efeito *Parlevliet*, em que se tem uma falsa aparência de resistência do tipo horizontal, observada quando a população do hospedeiro e do patógeno são heterogêneas (SIDHU, 1984).

A resistência horizontal apresenta maior estabilidade por supostamente atuar uniformemente contra várias populações dos fitopatógenos, sendo também considerada mais durável por estar menos sujeita a flutuações na população desses microrganismos (PINHO et al., 2001). Com isso, a resistência horizontal é considerada mais eficiente no controle de várias doenças foliares do milho (BRITO et al., 2011) e a mesma tem sido buscada por programas de melhoramento, os quais concentram esforços no desenvolvimento de híbridos

para as regiões onde à mancha-branca, cercosporiose e ferrugem comum são prevalentes.

Na avaliação dos dois ambientes, foi constatada alta severidade das doenças avaliadas, tal como indicado pelos valores médios de AACPD de mancha-branca (144,00), cercosporiose (121,14) e ferrugem comum (135,11) (Tabela 3).

Os coeficientes de variação experimental obtidos na avaliação da mancha-branca, cercosporiose e ferrugem comum foram de 13,31%, 16,54% e 21,53%, respectivamente (Tabela 3).

No contexto de avaliação fitossanitária geralmente a ocorrência dos patógenos causadores de doenças foliares no milho não é uniforme nas áreas experimentais e isso reduz a precisão experimental (SANTOS et al., 2002), tal como pode ser verificado em diversos trabalhos conduzidos com esse propósito (FANTIN; SAWAZAKI; BARROS, 1991; VIEIRA et al., 2009).

Os menores valores de coeficiente de variação experimental observados neste trabalho podem ser decorrentes da utilização de bordadura e semeadura da fonte de inóculo na extremidade de cada bloco, cuidados os quais contribuíram para que as doenças ocorressem com maior severidade e os inóculos dos patógenos mais uniformemente distribuídos nos experimentos.

De modo concordante com a análise de variância conjunta (Tabela 3), o teste de agrupamento para AACPD de mancha-branca, cercosporiose e ferrugem comum evidenciaram grupos distintos (Tabela 4).

Foi verificado que dentre os híbridos avaliados há uma grande variabilidade quanto à reação dos mesmos à mancha-branca, cercosporiose e ferrugem comum (Tabela 4), o que indica que existe fonte de resistência genética para o controle dessas enfermidades do milho e essa informação é de grande relevância para orientar futuros trabalhos de melhoramento.

Os híbridos GNZ9626 PRO e GNZ9501 PRO destacaram-se dentre os demais, por apresentarem alta produtividade de grãos e satisfatório nível de resistência as três doenças avaliadas (Tabela 4). Sendo indicados para o cultivo em regiões e épocas de plantio nas quais há maior pressão dessas doenças.

Dentre os híbridos provenientes do programa de melhoramento genético do DBI/UFLA o BIO 006, BIO 007 e BIO 009 apresentaram desempenho produtivo semelhante a alguns híbridos comerciais de alto nível tecnológico, mas foi verificado nos mesmos, baixos níveis de resistência as três doenças avaliadas (Tabela 4). Isso mostra que o cultivo desses híbridos deve ser recomendado para regiões e épocas de plantio nas quais essas doenças foliares são observadas com menor severidade. Além disso, tais resultados reforçam a necessidade da avaliação simultânea da produtividade de grãos e do nível de resistência a doenças para a escolha e recomendação de híbridos para o cultivo nas diferentes regiões do país.

Tabela 4 Valores da produtividade de grãos (kg ha^{-1}) e da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) obtida a partir de avaliações da severidade de mancha-branca (MB), cercosporiose (CE) e ferrugem comum (FC) de 30 híbridos de milho avaliados em dois ambientes no município de Lavras - MG

| Híbridos | MB ⁽¹⁾ | CE ⁽¹⁾ | FC ⁽¹⁾ | Produtividade ⁽²⁾ |
|-----------------|-------------------|-------------------|-------------------|------------------------------|
| | (AACPD) | | | (kg ha^{-1}) |
| GNZ9626 PRO | 77,92 a | 62,14 a | 125,15 c | 13.388 A |
| GNZ9501 PRO | 65,82 a | 52,19 a | 61,74 a | 13.003 A |
| BM207 | 123,43 b | 102,10 b | 144,71 d | 11.451 B |
| Maximus Viptera | 140,16 c | 111,69 b | 111,98 c | 11.313 B |
| BIO 006 | 139,79 c | 150,66 d | 168,39 d | 10.890 B |
| BIO 007 | 180,96 d | 151,01 d | 214,66 e | 10.875 B |
| P30F87 | 146,24 c | 88,24 b | 127,23 c | 10.759 B |
| GNZ9688 PRO | 68,77 a | 47,89 a | 46,35 a | 10.628 B |
| 30P70 H | 240,22 e | 150,28 d | 188,43 e | 10.404 B |
| BM3061 | 169,50 d | 133,43 c | 148,53 d | 10.130 B |
| BIO 009 | 156,47 c | 157,44 d | 132,77 c | 10.061 B |
| GNZ9506 PRO | 110,38 b | 117,65 c | 123,87 c | 9.883 B |

“Tabela 4, conclusão”

| Híbridos | MB ⁽¹⁾ | CE ⁽¹⁾ | FC ⁽¹⁾ | Produtividade ⁽²⁾ |
|-------------|-------------------|-------------------|-------------------|------------------------------|
| | (AACPD) | | | (kg ha ⁻¹) |
| DKB 390 | 66,03 a | 161,35 d | 172,44 d | 9.872 B |
| BIO 004 | 166,69 d | 110,90 b | 140,73 d | 9.512 C |
| BIO 011 | 113,77 b | 80,11 b | 119,31 c | 9.498 C |
| P32R22 H | 250,46 e | 189,85 e | 175,25 d | 9.334 C |
| GNZ9505 PRO | 192,57 d | 129,65 c | 87,79 b | 9.274 C |
| P30F90 | 150,22 c | 185,19 e | 146,28 d | 9.186 C |
| BIO 005 | 176,43 d | 144,63 d | 154,54 d | 9.124 C |
| BIO 008 | 122,14 b | 65,42 a | 150,96 d | 9.096 C |
| BIO 013 | 144,38 c | 134,42 c | 109,88 c | 8.974 C |
| AG4051 | 77,01 a | 95,12 b | 193,46 e | 8.683 C |
| BIO 010 | 166,13 d | 135,53 c | 111,10 c | 8.609 C |
| P30F80 H | 181,64 d | 188,63 e | 115,51 c | 8.586 C |
| BIO 002 | 187,20 d | 151,03 d | 83,84 b | 8.132 C |
| BIO 001 | 202,08 d | 163,06 d | 92,76 b | 8.083 C |
| BIO 012 | 136,54 c | 100,19 b | 148,86 d | 7.959 C |
| BIO 003 | 172,31 d | 137,81 c | 98,33 c | 7.907 C |
| BIO 014 | 135,29 c | 97,19 b | 141,49 d | 7.004 D |
| BIO 015 | 59,42 a | 39,37 a | 217,00 e | 5.245 D |
| Média | 144,00 | 121,14 | 135,11 | 9.562 |

⁽¹⁾ Médias seguidas de mesmas letras minúsculas na coluna pertencem ao mesmo agrupamento, pelo teste *Scott-Knott*, a 5% de significância. Sendo: a= altamente resistente (AR); b= resistente (R); c= moderadamente resistente (MR); d= moderadamente suscetível (MS); e= suscetível (S).

⁽²⁾ Médias seguidas de mesmas letras maiúscula na coluna pertencem ao mesmo agrupamento, pelo teste *Scott-Knott*, a 5% de significância.

4.2 Épocas de avaliação das doenças

A AACPD é utilizada para discriminar os genótipos quanto ao nível de resistência a doenças, pois essa metodologia permite quantificar a ação dos patógenos por estimar o progresso da doença ao longo do ciclo da cultura (CAMPBELL; MADDEN, 1990).

Esse método de avaliação é considerado mais estável, sendo menos afetado pela época de avaliação e flutuações ambientais quando comparada com

a avaliação em uma única época (SOUZA; DUARTE, 2002). Contudo, nem sempre é viável em um programa de melhoramento genético avaliar os mesmos híbridos em diversas épocas ao longo de seu ciclo. Isso porque geralmente são conduzidos experimentos com centenas ou até milhares de genótipos em cada safra, o que leva o melhorista a tomar a decisão de avaliar os híbridos em uma única época, visando poupar tempo e recurso financeiro.

Por meio da análise de variância conjunta para os dados de severidade, envolvendo dois ambientes, três doenças e cinco épocas de avaliação, observou-se que a fonte de variação - híbridos - foi significativa em todas as épocas (Tabela 5). Isso mostra que em cada época pelo menos um híbrido diferiu dos demais quanto à reação a *Phaeospharia maydis*, *Cercospora zea maydis* e *Puccinia sorghi*.

Na tabela 6, estão representados os coeficientes de correlação de *Sperman* entre as notas de severidade de mancha-branca, cercosporiose e ferrugem comum em cada época de avaliação com a respectiva AACPD, na qual percebe-se que todas as correlações estimadas foram positivas e significativas.

No entanto, aos 60 e 70 dias após a emergência das plantas foram estimadas correlações de *Sperman* com valores de menor magnitude (Tabela 6). Sendo isso, atribuído ao fato dessas épocas de avaliação apresentarem menores valores médios para a severidade dessas enfermidades (Tabela 5), o que demonstra que as mesmas não são as épocas mais indicadas para a discriminação fenotípica do nível de resistência a essas doenças na cultura do milho.

Nos resultados das avaliações realizadas aos 80, 90 e 100 dias após a emergência das plantas foram observadas maiores valores médios para a severidade dessas doenças (Tabela 5), acompanhados também, por elevados valores de correlação de *Sperman* (Tabela 6). Esses resultados mostram que as informações obtidas quanto ao nível de resistência dos híbridos às doenças avaliadas com o emprego da AACPD são semelhantes às observadas ao se optar

por uma única avaliação entre 80 e 100 dias após a emergência das plantas, o que pode proporcionar maior eficiência no processo seletivo.

Resultados semelhantes foram obtidos no trabalho conduzido por Souza e Duarte (2002), no qual ao avaliar a mancha-branca do milho foram verificadas correlações positivas e de alta magnitude entre a AACPD e as épocas de avaliação 85, 95 e 105 dias após a semeadura. Corroborando com isso, Lopes et al. (2011), avaliando essa mesma enfermidade do milho, verificaram que estimativas aos 15 e 30 dias após o florescimento, fornecem correlações positivas e de alta magnitude com a AACPD.

Tabela 5 Resumo da análise de variância conjunta para severidade de mancha-branca, cercosporiose e ferrugem comum em 30 híbridos de milho avaliados aos 60, 70, 80, 90 e 100 dias após a emergência (DAE), em dois ambientes no município de Lavras - MG

| Fonte de Variação | GL | Quadrados Médios | | | | |
|----------------------|----|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Mancha-branca | | | | | | |
| Híbridos | 29 | 1,32** | 4,59** | 10,41** | 13,34** | 19,36** |
| Ambientes | 1 | 32,08** | 105,80** | 39,20** | 1,08 ^{NS} | 51,20** |
| Híbridos x Ambientes | 29 | 0,25 ^{NS} | 0,64* | 1,22 ^{NS} | 1,14** | 1,95** |
| Resíduo | 86 | 0,17 | 0,34 | 1,11 | 0,47 | 0,48 |
| Média | | 1,74 | 2,44 | 3,67 | 4,65 | 5,55 |
| CV (%) | | 23,85 | 23,98 | 28,75 | 14,77 | 12,53 |
| Cercosporiose | | | | | | |
| Híbridos | 29 | 0,09* | 1,11** | 7,53** | 12,89** | 23,82** |
| Ambientes | 1 | 0,00 ^{NS} | 6,80** | 17,42** | 4,67* | 78,67** |
| Híbridos x Ambientes | 29 | 0,04 ^{NS} | 0,37 ^{NS} | 0,83 ^{NS} | 0,67 ^{NS} | 1,21 ^{NS} |
| Resíduo | 86 | 0,05 | 0,25 | 1,24 | 0,90 | 0,84 |
| Média | | 1,06 | 1,56 | 3,02 | 4,09 | 5,80 |
| CV (%) | | 22,16 | 32,31 | 36,85 | 23,17 | 15,87 |

“Tabela 5, conclusão”

| Fonte de Variação | GL | Quadrados Médios | | | | |
|----------------------|----|------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |
| Ferrugem comum | | | | | | |
| Híbridos | 29 | 0,45** | 3,25** | 8,42** | 10,30** | 13,76** |
| Ambientes | 1 | 42,05** | 61,25** | 10,27* | 11,75* | 8,45* |
| Híbridos x Ambientes | 29 | 0,30** | 0,55 ^{NS} | 2,50 ^{NS} | 1,82 ^{NS} | 2,11 ^{NS} |
| Resíduo | 86 | 0,13 | 0,42 | 1,62 | 1,85 | 1,59 |
| Média | | 1,58 | 1,96 | 3,66 | 4,54 | 5,10 |
| CV (%) | | 23,43 | 33,37 | 34,84 | 29,94 | 24,70 |

^{NS}, *, ** = não significativo, significativo a 5% e 1%, respectivamente, pelo teste F.

Tabela 6 Coeficientes de correlação de *Sperman* entre as notas provenientes da análise de variância conjunta da severidade de mancha-branca, cercosporiose e ferrugem comum aos 60, 70, 80, 90 e 100 dias após a emergência das plantas com a respectiva área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), em 30 híbridos de milho avaliados em dois ambientes no município de Lavras - MG

| | AACPD mancha-branca | AACPD cercosporiose | AACPD ferrugem comum |
|-----------------------|---------------------|---------------------|----------------------|
| 60 DAE ⁽¹⁾ | 0,72 (<0,001) | 0,44 (0,014) | 0,57 (0,001) |
| 70 DAE | 0,79 (<0,001) | 0,83 (<0,001) | 0,56 (0,001) |
| 80 DAE | 0,97 (<0,001) | 0,97 (<0,001) | 0,94 (<0,001) |
| 90 DAE | 0,96 (<0,001) | 0,97 (<0,001) | 0,96 (<0,001) |
| 100 DAE | 0,93 (<0,001) | 0,94 (<0,001) | 0,95 (<0,001) |

⁽¹⁾ DAE – dias após a emergência; () Entre parêntesis a probabilidade de significância pelo teste t.

4.3 Caracteres ultraestruturais

A análise de variância para os dados da espessura da epiderme, densidade estomática e densidade de tricomas dos híbridos de milho altamente resistente (AR), resistente (R), moderadamente resistente (MR), moderadamente suscetível (MS) e suscetível (S), à mancha-branca, cercosporiose e ferrugem

comum é representada na tabela 7. Pode-se observar que para a mancha-branca e para a ferrugem comum a fonte de variação - híbridos - foi significativa para os três caracteres morfológicos analisados, ou seja, ocorreu variabilidade entre os híbridos representantes dos níveis de resistência a essas enfermidades com relação a esses caracteres.

Tabela 7 Resumo da análise de variância da avaliação da espessura da epiderme, densidade estomática e densidade de tricomas da face abaxial de folhas de híbridos de milho representantes de cinco níveis de resistência à mancha-branca, cercosporiose e ferrugem comum

| Fonte de Variação | G L | Quadrados Médios | | |
|-------------------------------|--------|--------------------|---------------------|---------------------|
| | | Mancha-branca | Cercosporiose | Ferrugem comum |
| Espessura da epiderme | | | | |
| Híbridos | 4 | 26,98* | 21,08 ^{NS} | 26,48** |
| Repetições | 2 | 8,62 ^{NS} | 7,78 ^{NS} | 4,58 ^{NS} |
| Resíduo | 8 | 6,30 | 7,62 | 1,75 |
| Média (µm) | | 22,92 | 23,56 | 22,67 |
| CV (%) | | 10,95 | 11,71 | 5,84 |
| Densidade estomática | | | | |
| Híbridos | 4 | 166,56** | 162,06* | 111,56* |
| Repetições | 2 | 6,66 ^{NS} | 2,46 ^{NS} | 15,20 ^{NS} |
| Resíduo | 8 | 20,66 | 25,46 | 20,11 |
| Média (0,29 mm ²) | | 39,06 | 37,26 | 37,60 |
| CV(%) | | 11,63 | 13,54 | 11,92 |
| Densidade de tricomas | | | | |
| Híbridos | 4 | 34,00** | 4,00 ^{NS} | 33,56* |
| Repetições | 2 | 2,86 ^{NS} | 3,26 ^{NS} | 3,46 ^{NS} |
| Resíduo | 8 | 4,45 | 3,60 | 7,71 |
| Média (0,29 mm ²) | | 10,66 | 9,66 | 11,26 |
| CV (%) | | 19,77 | 19,62 | 24,65 |

^{NS}, *, ** = não significativo, significativo a 5% e 1%, respectivamente, pelo teste F.

Em contrapartida para a cercosporiose, a fonte de variação - híbridos - foi significativa somente para os dados referentes à densidade de estômatos, evidenciando que não há variabilidade entre os híbridos representantes dos

níveis de resistência a essa doença quanto à espessura da epiderme e densidade de tricomas (Tabela 7).

Alguns fungos penetram nos tecidos foliares por meio da face abaxial com lise das células da epiderme como resultado da intensa proliferação do tecido micelial, sendo descrito por MUSSURY; BETONI; SILVA (2012), que genótipos de soja com epiderme mais espessa são menos suscetíveis ao ataque do patógeno *Phakopsora pachyrhizi*.

Apesar disso, no presente trabalho, mesmo que os híbridos representantes dos níveis de resistência à mancha-branca e ferrugem comum diferiram entre si com relação à espessura da epiderme, os resultados representados na tabela 8, mostram que os híbridos com maior espessura desse tecido foliar não necessariamente apresentaram maior nível de resistência a essas doenças.

No caso da cercosporiose, corroborando com os resultados apresentados na tabela 7, os valores da espessura desse tecido foliar não apresentaram significância entre os genótipos avaliados, demonstrando que esse caráter não está associado ao nível de resistência desses híbridos (Tabela 8).

Os estômatos por se tratarem de uma das vias de entrada para determinados fitopatógenos no interior dos tecidos foliares, estão entre os fatores que podem contribuir para a infecção desses microrganismos em plantas (STENGLEIN et al., 2005). No entanto, percebe-se que nos patossistemas avaliados não houve relação entre a resistência e a densidade dessa estrutura morfológica (Tabela 8). Isso também foi constatado em estudos realizados nos patossistemas café-*Hemileia vastatrix* (ACUÑA; ACUÑA; ZAMBOLIM, 1998), cacau-*Phytophthora palmivora* (IWARO; SREENIVASAN; UMAHARAN, 1997) e mostarda-*Alternaria brassicae* (SINGH; SINGH; SRIVASKA, 1999).

A alta densidade de tricomas pode interferir na continuidade de água sobre a superfície da folha, dificultando a germinação dos esporos (SILVA;

ALQUINI; CAVALLET, 2005). Foi relatado que em alguns patossistemas, a exemplo do feijoeiro - *Colletotrichum lindemuthianum* que os genótipos que têm maior densidade de tricomas apresentam maior nível de resistência ao patógeno supracitado (JERBA; RODELLA; FURTADO, 2005).

Tabela 8 Valores da espessura da epiderme (EE), densidade estomática (DE) e densidade de tricomas (DT) obtidos a partir da avaliação da face abaxial de folhas de híbridos de milho representantes de cinco níveis de resistência à mancha-branca, cercosporiose e ferrugem comum

| Híbridos | Níveis de resistência ⁽¹⁾ | (EE) ⁽²⁾ | (DE) ⁽²⁾ | (DT) ⁽²⁾ |
|-----------------|--------------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | | Mancha-branca | | |
| GNZ9501 PRO | a | 25,42 A | 32,00 C | 9,00 B |
| GNZ9506 PRO | b | 19,26 B | 30,00 D | 9,00 B |
| Maximus Viptera | c | 24,94 A | 45,30 A | 9,67 B |
| P30F80 H | d | 25,56 A | 45,00 A | 9,00 B |
| 30P70 H | e | 20,31 B | 43,00 B | 16,67 A |
| Cercosporiose | | | | |
| GNZ9501 PRO | a | 25,42 A | 32,00 B | 9,00 A |
| Maximus Viptera | b | 24,96 A | 45,33 A | 9,67 A |
| GNZ9506 PRO | c | 19,26 A | 30,00 B | 9,00 A |
| DKB 390 | d | 23,32 A | 34,00 B | 11,67 A |
| P30F80 H | e | 25,56 A | 45,00 A | 9,00 A |
| Ferrugem comum | | | | |
| GNZ9501 PRO | a | 25,42 A | 32,00 B | 9,00 B |
| GNZ9505 PRO | b | 18,85 B | 34,00 B | 12,33 B |
| Maximus Viptera | c | 24,90 A | 45,33 A | 9,67 B |
| P30F90 | d | 24,80 A | 33,66 B | 8,67 B |
| 30P70 H | e | 20,30 B | 43,00 A | 16,67 A |

⁽¹⁾ Níveis de resistência à mancha-branca, cercosporiose e ferrugem comum. Sendo: a= altamente resistente (AR); b= resistente (R); c= moderadamente resistente (MR); d= moderadamente suscetível (MS); e= suscetível (S).

⁽²⁾ Médias seguidas de mesmas letras maiúscula na coluna pertencem ao mesmo agrupamento, pelo teste *Scott-Knott*, a 5% de significância.

Contrastando com isso, os resultados da tabela 8, mostram que uma maior densidade de tricomas não proporcionou um maior nível de resistência à mancha-branca e ferrugem comum do milho. Sendo observados inclusive, maiores valores para a densidade dessa estrutura morfológica em híbridos mais suscetíveis a essas doenças. Além disso, na tabela 8, verifica-se que as diferenças na densidade de tricomas dos híbridos representantes dos níveis de resistência à cercosporiose não apresentaram significância. Esses resultados indicam que não há relação entre a densidade de tricomas e os níveis de resistência à mancha-branca, cercosporiose e ferrugem comum do milho. Resultados semelhantes foram relatados por Fiume (1994), o qual constatou que o número de tricomas não contribuiu para a resistência à ferrugem no feijoeiro.

Corroborando, com os dados representados na tabela 8, os coeficientes de correlação de *Sperman* entre a AACPD de mancha-branca, cercosporiose e ferrugem comum com os caracteres morfológicos estudados, evidenciam que todas as correlações obtidas foram de baixa à média magnitude e não significativas (Tabela 9). Isso é indicativo de que realmente não há associação entre o nível de resistência as três doenças avaliadas com a espessura da epiderme, densidade de estômatos e densidade de tricomas.

Tabela 9 Coeficiente de correlação de *Sperman* da área abaixo da curva de progresso das doenças mancha-branca, cercosporiose e ferrugem comum com a espessura da epiderme, densidade estomática e densidade de tricomas

| AACPD | Espessura da epiderme | Densidade de estômatos | Densidade de tricomas |
|----------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|
| Mancha-branca | 0,00 (1,0000) | 0,50 (0,3900) | 0,67 (0,2150) |
| Cercosporiose | 0,50 (0,3910) | 0,6 (0,2848) | 0,335 (0,5810) |
| Ferrugem comum | -0,4 (0,5050) | 0,5 (0,3910) | 0,3 (0,6240) |

() Entre parênteses a probabilidade de significância pelo teste t.

Na literatura é descrito que a presença de camada de cera presente sobre os tecidos foliares de algumas espécies vegetais consiste em um importante mecanismo de resistência estrutural, pelo fato dessa estrutura constituir-se em uma barreira física e química a penetração de patógenos (JERBA; RODELLA; FURTADO, 2005), a exemplo do fungo *Mycosphaerella fijiensis*, agente etiológico da sigatoka-negra em bananeira (BALINT; MAY; CHURCHILL, 2001).

No presente trabalho, foi observada pequena quantidade de cera sobre a superfície foliar dos híbridos representantes dos níveis de resistência à mancha-branca, cercosporiose e ferrugem comum, a qual praticamente não diferiu quanto à organização entre os híbridos avaliados, tal como apresentado nas figuras 2, 3 e 4, respectivamente. Isso mostra que no caso dos patossistemas que envolvem o milho e os fungos *Phaeospharia maydis*, *Cercospora zea maydis* e *Puccinia sorghi*, o relacionamento da resistência com esse aspecto morfológico não foi verificado. Sendo este resultado similar ao obtido por Furtado et al. (2009), no qual pelo emprego da MEV constatou que não há diferenças significativas entre os genótipos de soja analisados quanto à organização da camada de cera, que pudessem explicar as diferenças verificadas na infecção causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi*.

Tendo em vista os resultados obtidos, a resistência à mancha-branca, cercosporiose e ferrugem comum provavelmente é condicionada por mecanismos de defesa bioquímicos, tal como ocorre para a resistência à helmistosporiose, mancha de diplodia (FREY et al., 1997) e ferrugem polissora do milho (SILVA, 2005).

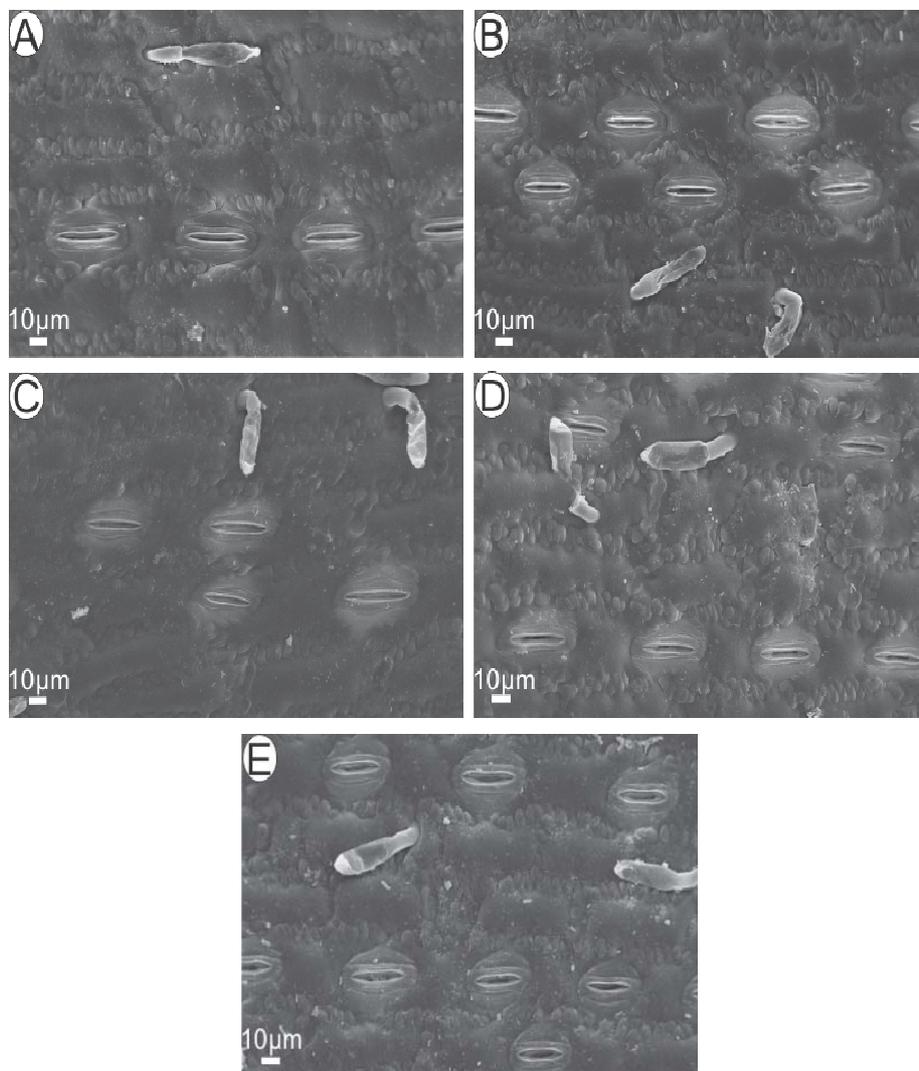


Figura 2 Eletromicrografias de varredura mostrando a camada de cera da superfície abaxial de folhas de híbridos de milho representantes dos níveis de resistência à mancha-branca

Nota: Híbridos: (A) GNZ9501 PRO; (B) GNZ9506 PRO; (C) Maximus Viptera; (D) P30F80 H; (E) 30P70. Sendo: A= altamente resistente (AR); B= resistente (R); C= moderadamente resistente (MR); D= moderadamente suscetível (MS); E= suscetível (S). As barras representam comprimento de 10 µm e o aumento de 3.000 vezes.

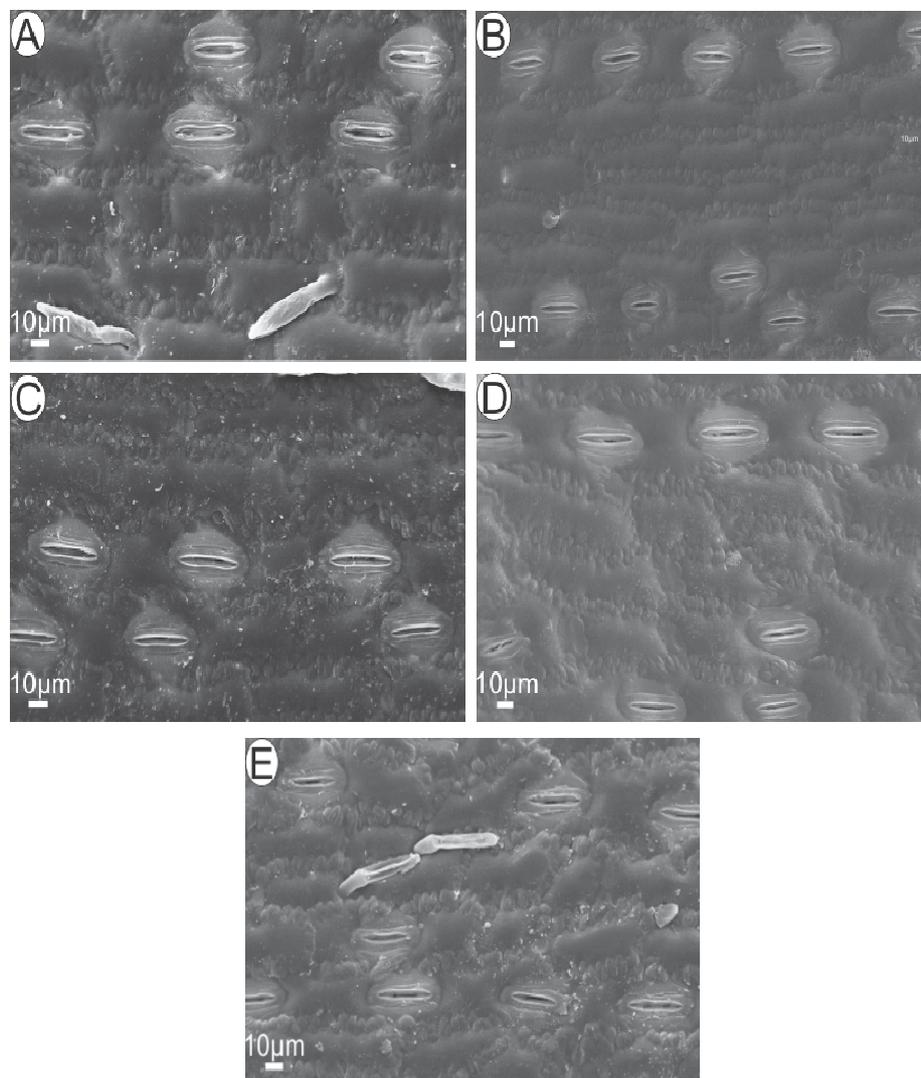


Figura 3 Eletromicrografia de varredura mostrando a camada de cera da superfície abaxial de folhas de híbridos de milho representantes dos níveis de resistência à cercosporiose

Nota: Híbridos: (A) GNZ9501 PRO; (B) Maximus Viptera; (C) GNZ9506 PRO; (D) DKB 390; (E) 30F80 H. Sendo: A= altamente resistente (AR); B= resistente (R); C= moderadamente resistente (MR); D= moderadamente suscetível (MS); E= suscetível (S). As barras representam comprimento de 10 µm e o aumento de 3.000 vezes.

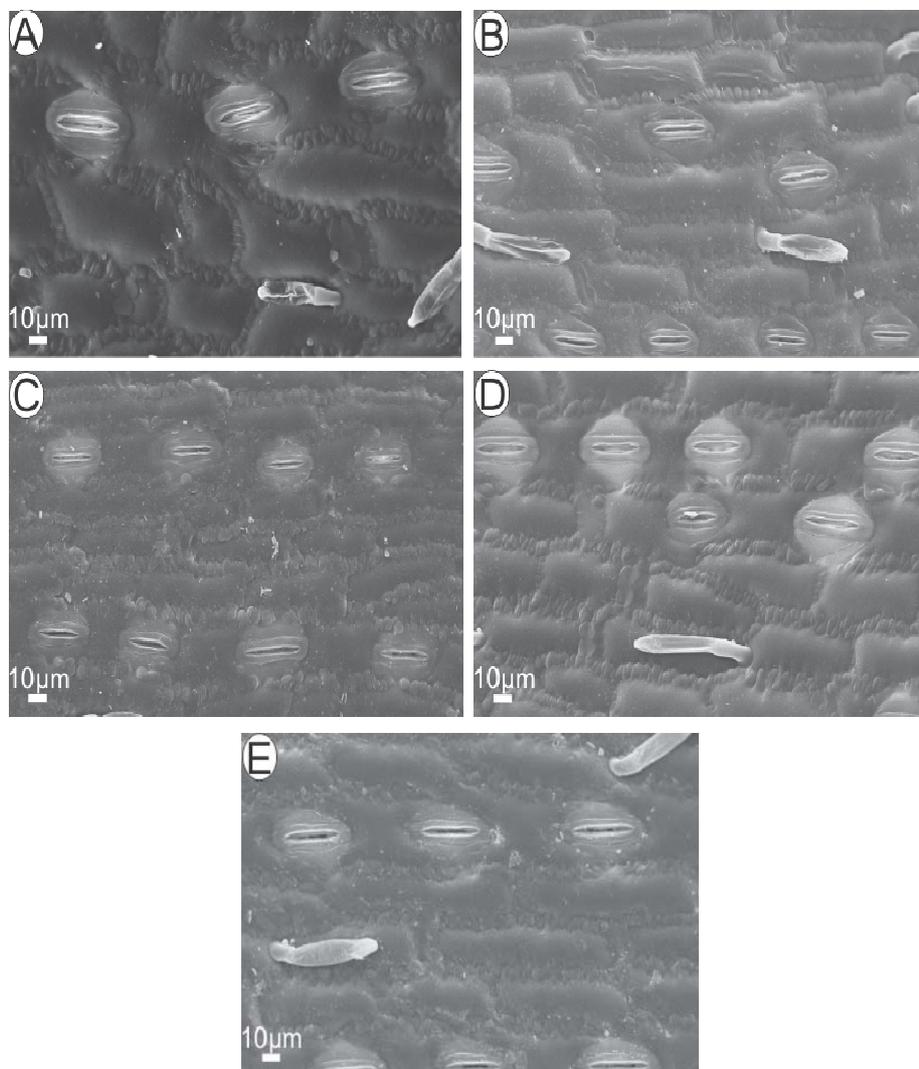


Figura 4 Eletromicrografia de varredura mostrando a camada de cera da superfície abaxial de folhas de híbridos de milho representantes dos níveis de resistência à ferrugem comum

Nota: Híbridos: (A) GNZ 9501PRO; (B) GNZ 9505PRO; (C) Maximus Viptera; (D) P30F90 H; (E) 30P70. Sendo: A= altamente resistente (AR); B= resistente (R); C= moderadamente resistente (MR); D= moderadamente suscetível (MS); E= suscetível (S). As barras representam comprimento de 10 µm e o aumento de 3.000 vezes.

5 CONCLUSÕES

Os híbridos GNZ9501 PRO e GNZ9626 PRO apresentam alta produtividade de grãos e satisfatório nível de resistência à mancha-branca, cercosporiose e ferrugem comum.

Para a avaliação do nível de resistência aos patógenos *Cercospora zae maydis*, *Phaeospharia maydis* e *Puccinia sorghi* deve-se optar pela avaliação no período que compreende 80 a 100 dias após a emergência das plantas, o qual fornece resultados semelhantes à AACPD.

Nas condições estudadas não há associação entre o nível de resistência às três doenças avaliadas e as estruturas morfológicas espessura da epiderme, densidade estomática, densidade de tricomas e a camada de cera presentes na face abaxial de folhas de híbridos de milho.

REFERÊNCIAS

ACUÑA, R. S.; ACUÑA, A. S.; ZAMBOLIM, L. Índice estomático em materiales genéticos de café resistentes o susceptibles a la roya. **Bioagro**, Viçosa, MG, v. 10, n. 2, p. 57-61, jan. 1998.

AGRIANUAL 2011: anuário da agricultura brasileira. São Paulo: FNP Consultoria, 2011. 182 p.

AGRIANUAL 2013: anuário da agricultura brasileira. São Paulo: FNP Consultoria, 2013. 200 p.

AGROCERES. **Guia Agroceres de sanidade**. São Paulo: Sementes Agroceres, 1996.

ALVES, E. **Curso introdutório à microscopia eletrônica de varredura**. Lavras: UFLA/ FAEPE, 2004. 43 p.

ALVES, E. Mecanismos estruturais na resistência de plantas a patógenos. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 33, p. 154-156, ago. 2007.

AMARAL, A. L. et al. Determinação de agentes causais de manchas semelhantes à mancha de Phaeospharia em Milho (*Zea mays*). In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 24., 2002, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: ABMS, 2002. 1 CD ROM.

ARAÚJO, J. S. **Ganhos genéticos obtidos em híbridos e variedades de milho representativos de três décadas de melhoramento no Brasil**. 1995. 64 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1995.

ASSESSORIA DE COMUNICAÇÃO DA EMATER/MG SECRETARIA DE ESTADO DE AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO DE MINAS GERAIS. Disponível em: <<http://www.agricultura.mg.gov.br/dados/2-01.htm>.2008>. Acesso em: 4 fev. 2012.

BALINT, K. P. J.; MAY, G. D.; CHURCHILL, A. C. L. Development of a transformation system for *Mycosphaerella* pathogens of banana: a tool for the study of host/pathogen interactions. **Microbiology Letters**. Amsterdam, v. 195, n.1, p. 9-15, Feb. 2001.

BRANDÃO, A. M. et al. Fungicidas e épocas de aplicação no controle da ferrugem comum (*Puccinia sorghi*) em diferentes híbridos de milho. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 19, 43-52, jan./abr. 2003.

BRANDÃO, A. M. **Manejo da cercosporiose (*Cercospora zae-maydis* Tehon & Daniels) e da ferrugem comum do milho (*Puccinia sorghi* Schw.) pelo uso da resistência genética, fungicidas e épocas de aplicação**. 2002. 169 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia - Fitotecnia) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2002.

BRASIL. **Regras para análise de sementes**. Brasília: MAPA, 2009.

BRITO, A. H. et al. Efeito da cercosporiose no rendimento de híbridos comerciais de milho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 6, p. 472-479, dez. 2007.

BRITO, A. H. et al. Reação de híbridos de milho e comparação de métodos para avaliação da Cercosporiose e Mancha Branca. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 36, n. 1, p. 35-41, jan. 2011.

BUBECK, D. M. et al. Quantitative trait loci controlling resistance to gray leaf spot in maize. **Crop Science**, Madison, v. 33, n. 4, p. 838-847, June 1993.

CAMPBELL, L. L.; MADDEN, L. V. **Monitoring epidemics. In: Introduction to plant disease epidemiology.** New York: J. Wiley, 1990. p. 107-128.

CARSON, M. L. Yield loss potential of *Phaeosphaeria* leaf spot of maize caused by *Phaeosphaeria maydis* in the United States. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 89, p. 986–988, Sept. 2005.

CASELA, C. R.; FERREIRA, A. S.; PINTO, N. F. J. A. **Doenças na cultura do milho 83.** Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2006. p. 1-14. Circular Técnica.

CASELA, C. R.; GUIMARÃES, F. B. Rotação de genes no manejo da resistência a doenças. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo v. 13, p. 321-349, abr. 2005.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Comparativo da área, produção e produtividade:** safras 2011 e 2012. Disponível em: <<http://conab.gov.br/safra.asp>>. Acesso em: 29 jun. 2012.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - **Décimo quarto levantamento de grãos/ julho/2011.** Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/10levsafra.pdf>>. Acesso em: 25 jul. 2011.

COSTA, V.; CASELA, C. R.; COTA, L. V. **Cultivo do milho:** sistemas de produção Embrapa. 2009. Disponível em: <www.sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br>. Acesso em: 3 maio 2012.

CHUPP, C. **A monograph of the fungus genus Cercospora.** New York. The Ronald, 1953. 667 p.

CRUZ, C. D. **Programa Genes:** aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa, MG: UFV, 2001. 648 p.

DERERA, J. et al. Gene action controlling Gray leaf spot resistance in Southern African Maize Germplasm. **Crop Science**, Madison, v. 48, n.1, p. 93-98, jun. 2008.

DIANESE, J. C. **Patologia vegetal**: agressão e defesa em sistemas planta-patógeno. Brasília: UNB, 1990.

DUARTE, R. P.; JULIATTI, F. C.; FREITAS, P. T. Eficácia de diferentes fungicidas na cultura do milho. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 25, p. 101-111, jul./ago. 2009.

DUVICK, D. N. Biotechnology in the 1930s: the development of hybrid maize. **Nature Review Genetics**, London, v. 2, p. 69-74, Oct. 2001.

DUVICK, D. N. Maize breeding: past, present and future. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 20., 1994, Goiânia. **Anais...** Goiânia: EMBRAPA, 1994. p. 1-19.

DUVICK, D. N. The contribution of breeding to yield advances in maize (*Zea mays* L.). **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 86, n. 1, p. 84-138, Nov. 2005.

FANTIN, G. M.; SAWAZAKI, E.; BARROS, B. C. Avaliações de genótipos de milho pipoca quanto à resistência a doenças e qualidade da pipoca. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 17, n. 2, p. 90-99, ago. 1991.

FANTIN, G. M. et al. **Mancha de cercospora do milho**. Campinas: IAC, 2001. 19 p. Boletim Técnico, 192.

FERREIRA, R. B. et al. The role of plant defense proteins in fungal pathogenesis. **Molecular Plant Pathology**, Londres, v. 5, p. 677-700, Mar. 2007.

FERNANDES, F. T.; OLIVEIRA, E. **Principais doenças na cultura do milho**. Brasília: EMBRAPA-CNPMS, 2000. 80 p.

FERNANDES, J. S. C.; FRAZON, J. F. Third years of genetic progress in maize (*Zea mays* L.) in a tropical environment. **Maydica**, Bergamo, v. 42, n. 1, p. 21-27, May 1997.

FIUME, F. Individuazione di varietà di *Phaseolus vulgaris* L. e di *Phaseolus coccineus* L. con la resistenza verso *Uromyces appendiculatus* (Pers.) Unger. **Informatore Fitopatologico**, Bologna, v. 44, p. 49-57, Apr. 1994.

FREY, M. et al. Analysis of a chemical plant defense mechanism in grasses. **Science**, Washington, v. 277, p. 696-699, Aug. 1997.

FURTADO, G. Q. et al. Influência da luminosidade e da camada de cera epicuticular de superfícies de folhas de soja na infecção de *Phakopsora pachyrhizi*. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 34, p. 306-312, ago. 2009.

GALVÃO, J. C. C.; MIRANDA, G. V. **Tecnologia de produção do milho**. Viçosa, MG: UFV, 2008. 366 p.

GROSS, M. R.; PINHO, R. G. V.; BRITO, A. H. Adubação nitrogenada, densidade de semeadura e espaçamento entre fileiras na cultura do milho em sistema plantio direto. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, p. 387-393, nov./ dez. 2006.

GURGEL, F. F. **A cultura do milho**. Disponível em: <<http://www.scribd.com/doc/31650688/a-cultura-do-milho>>. Acesso em: 15 ago. 2012.

HALLAUER, A. R. Methods used in development of inbred lines. **Maydica**, Bergamo, v. 35, n. 1, p. 1-16, Nov. 1990.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Disponível em: <www.ibge.gov.br/home/estatística/indicadores/agropecuária>. Acesso em: 10 out. 2011.

IWARO, A. D.; SREENIVASAN, T. N.; UMAHARAN, P. *Phytophthora* resistance in cacao (*Theobroma cacao*) influence of pod morphological characteristics. **Plant Pathology**, Oxford, v. 46, n. 4, p. 557-565, Feb. 1997.

JERBA, V. F.; RODELLA, A. R.; FURTADO, E. L. Relação entre a estrutura foliar de feijoeiro e a pré-infecção por *Glomerella cingulata* f. sp. phaseoli. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, n. 3, p. 217-223, mar. 2005.

JULIATTI, F. C.; BRANDÃO, A. M. **Cercosporiose em milho (*Cercospora zae-maydis* Tehon & Daniels) afeta plantios de milho no cerrado brasileiro**. Uberlândia: UFU/Syngenta Seeds, 2000. Boletim Técnico.

JULIATTI, F. C.; SOUZA, R. M. Efeito de épocas de plantio na severidade de doenças foliares e produtividade de híbridos de milho. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 21, p. 103-112, jan./abr. 2005.

LATTERELL, F. M.; ROSSI, A. Gray leaf spot of corn: a disease on the move. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 67, n. 8, p. 842-847, Jan. 1983.

LOPES, M. T. G. et al. Progeny evaluation for resistance to *Phaeosphaeria* leaf spot in tropical maize. **Canadian Journal of Plant Pathology**, Québec, v. 33, n. 1, p. 49-53, Fev. 2011.

LOPES, M. T. G. et al. Controle genético da resistência à mancha de *Phaeosphaeria* em milho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 3, p. 605-611, 2007.

MANERBA, F. **Controle químico da mancha branca do milho**. 2010. 41 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

MESQUITA NETO, D. R. **Valor genético de populações de milho para resistência a doenças**. 2000. 211 p. Tese (Doutorado em genética e melhoramento de plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 2000.

MONTEZANO, Z. F.; CORAZZA, E. J.; MURAOKA, T. Variabilidade de nutrientes em plantas de milho cultivado em talhão manejado homoganeamente. **Bragantia**, Campinas, v. 67, p. 969-976, 2008.

MUSSURY, R. M.; BETONI, R.; SILVA, M. A. S. S. P. Q. Anatomia foliar de soja infectada por *Phakopsora pachyrhizi* H. Sydow & Sydow e tratadas com extratos vegetais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 14, n. 1, p.18-25, jan. 2012.

NAZARENO, N. R. X.; LIPPS, P. E.; MADDEN, L. V. Survival of *Cercospora zea maydis* in corn residue in Ohio. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 76 p. 560-563, 1992.

NETER, J.; WASSERMAN, W. **Applied linear statistical models**: regression, analysis of variance and experimental designs. Illinois: R. D. Irwin, 1974. 84 p.

PACCOLA-MEIRELLES, L. D. et al. Detection of bacterium associated with a leaf spot disease of maize in Brazil. **Journal of Phytopatology**, Main Street, v. 149, n. 5, p. 275-279, 2001.

PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de fitopatologia**: princípios e conceitos. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v. 1, p. 417-453.

PATAKY, J. CAMPANA, M. Reduction in common rust severity conferred by the Rp1D gene in sweet corn hybrids infected by mixtures of Rp1D-virulent and avirulent Puccinia sorghi. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 91, p. 1484-1488, 2007.

PEREIRA, O. A. P.; CARVALHO, R. V.; CAMARGO, L. E. A. Doenças do milho. In: KIMATI, H. et al. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3. ed. São Paulo: Ceres, 2005. v. 2, p. 477-488.

PEREIRA, O. A. P. Situação atual de doenças da cultura do milho no Brasil e estratégias de controle. In: ENCONTRO SOBRE TEMAS DE GENÉTICA E MELHORAMENTO, 12., Piracicaba, 1995. **Anais...** Piracicaba: ESALQ, 1995. p. 25-30.

PIMENTEL GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 14. ed. São Paulo: Nobel, 2000.

PINHO, R. G. VON et al. Reação de híbridos comerciais de milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 3, p. 439-445, mar. 2001.

PIXLEY, K. V. Hybrid and open-pollinated cultivars in modern agriculture. In: LAMKEY, K.; LEE, M. (Ed.). **Proceedings of the Arnel R. Hallauer international symposium on plant breeding**. Ames: Blackwell Professional, 2006. p. 234-250.

RAMALHO, M. A. P. et al. **Genética na agropecuária**. 3. ed. Lavras: UFLA, 2012. v. 1, p. 472.

RANE, M. S.; PAYAK, M. M.; RENFRO, B. L. Phaeosphaeria leaf spot of maize. **Indian Phytopathology Society**, New Delhi, v. 3, p. 8-10, 1965.

REIS, E. M.; CASA, R. T.; BRESOLIN, A. C. R. **Manual de diagnose e controle de doenças do milho**. 2. ed. Lages: Graphel, 2004. v. 2, p. 20-47.

RESENDE, M. L. V. et al. Mecanismos de defesa de plantas contra doenças. **Revisão Anual de patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 16, p. 133-184, 2008.

RICHARDSON M. J. **An annotated list of seed-borne diseases**. 4th ed. Zurich: International Seed Testing Association, 1990.

ROLIM, G. D. S. et al. Modelo agrometeorológico regional para estimativa da severidade da mancha de phaeosphaeria em milho safrinha no estado de São Paulo, Brasil. **Bragantia**, Campinas, v. 66, p. 721-728, jan. 2007.

SANTOS, P. G. et al. Avaliação do desempenho agrônômico de híbridos de milho em Uberlândia, MG. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 5, p. 597-602, maio 2002.

SAS INSTITUTE. **SAS software**: user's guide: version 8.2. Cary, 2000. 291 p.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; PASCHOLATI, S. F. Mecanismos bioquímicos de defesa vegetal. In: PASCHOLATI, S. F. et al. (Ed.). **Interação planta patógeno**: fisiologia, bioquímica e biologia molecular. Piracicaba: FEALQ, 2008. p. 227-248.

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, Raleigh, v. 30, n. 3, p. 507-512, 1974.

SHULL, G. H. A pure line method of corn breeding. **Report "American Breeders Association"**, Washington, v. 5, p. 51-59, 1909.

SIBIYA, J. et al. Combining ability analysis for Phaeosphaeria leaf spot resistance and grain yield in tropical advanced maize inbred lines. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 120, p. 86-93, 2011.

SIDHU, G. S. Parasitic epistasis. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 74, n. 4, p. 382-384, 1984.

SILVA, L. M.; ALQUINI, Y.; CAVALLET, J. Inter-relações entre a anatomia vegetal e a produção vegetal. **Acta Botânica Brasilica**, Brasília v. 19, n. 1, p. 183-194, 2005.

SILVA, O. C.; SCHIPANSKI, C. A. **Manual de identificação e manejo das doenças do milho**. 2. ed. Castro: Fundação ABC, 2007. p. 116.

SILVA, A. M. S. **Estudo dos mecanismos de defesa de plantas de milho através das abordagens de análise proteômica e mapeamento de QTLs**. 2005. 86 p. Tese (Doutorado em Biologia Funcional e Molecular) - INICAMP, Campinas, 2005.

SINGH, D. N.; SINGH, N. K.; SRIVASKA, S. Biochemical and morphological characters in relation to *Alternaria* blight resistance in rape seed-mustard. **Annals of Agricultural Research**, New Delhi, v. 20, n. 4, p. 472-477, 1999.

SOUZA, J. C.; DUARTE, J. M. Reação de cultivares de milho à *Phaeosphaeria maydis*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 2, p. 325-331, mar./abr. 2002.

STANGARLIN, J. R. et al. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, Marechal Cândido Rondon, v. 10, p. 18-46, jan. 2011.

STEEL, R. G.; TORRIE, J. K. **Principles and procedures of statistics: a biometrical approach**. 2nd ed. Tokyo : McGraw-Hill, 1980. p. 633.

STENGLEIN, S. A. et al. Leaf epidermal characters related with plant's passive resistance to pathogens vary among accessions of wild beans *Phaseolus vulgaris* var. *aborigineus* (*Leguminosae-Phaseolae*). **Flora**, Jena, v. 5, p. 285-295, 2005.

STORCK, L.; BISOGNIN, D. A.; CARGNELUTTI FILHO, A. C. Ganho genético decorrente da substituição anual de cultivares de milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, p. 881-886, 2005.

TEHON, L. R.; DANIELS, E. Notes on parasitic fungi of Illinois. **Mycologia**, New York, v. 17, n. 2, p. 240-249, 1925.

TROYER, A. F. Adaptedness and heterosis in corn and mule hybrids. **Crop Science**, Madison, v. 46, n. 2, p. 528-543, 2006.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Global crop production analysis**. Relatório do ano de 2012. Disponível em: <<http://www.pecad.fas.usda.gov/>>. Acesso em: 15 ago. 2012.

VENCOVSKY, R. et al. Avaliação do progresso genético devido o melhoramento de milho no Brasil. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 16., 1986, Belo Horizonte. **Anaias...** Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 1986. p. 300-307.

VIÉGAS, A. P. **Alguns fungos do Brasil**. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Agronomia, 1945. (Boletim, 8).

VIEIRA, R. et al. Reação de híbridos de milho. **Crop Breeding Applied**, Londrina, v. 9, p. 140-146, Dec. 2009.

WARD, J. M. J. et al. Gray leaf spot: a disease of global importance in maize production. **Plant Disease**, New York, v. 83, n. 10, p. 884-895, 1999.

WISSER, R. J.; BALINT-KURTI, P. J.; NELSON, R. J. The genetic architecture of disease resistance in maize: a synthesis of published studies. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 96, n. 2, p. 120-129, Feb. 2006.

ANEXOS

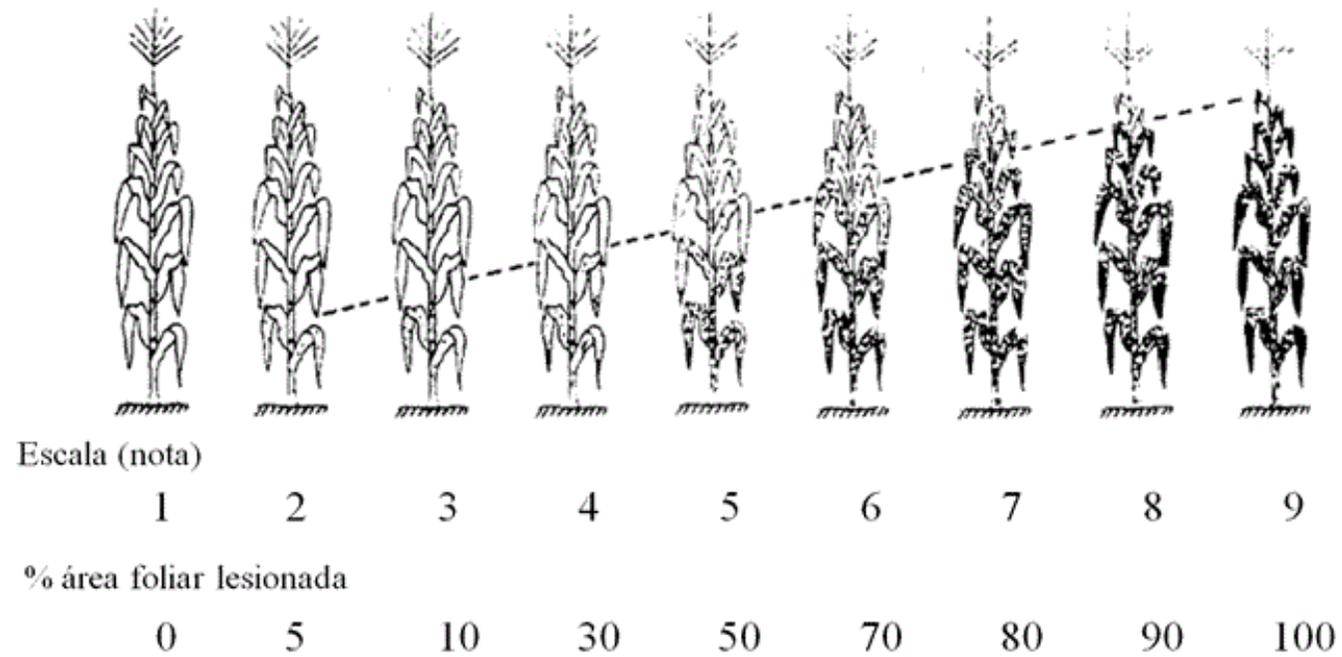


Figura 1A Escala diagramática para avaliação de mancha-branca, cercosporiose e ferrugem comum

Fonte: Adaptado de Agrocerec (1996).

Tabela 2A Resumo da análise de variância individual da produtividade de grãos (kg ha⁻¹) e área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) obtida a partir de avaliações da severidade de mancha-branca, cercosporiose e ferrugem comum, em 30 híbridos de milho avaliados em dois ambientes no município de Lavras - MG

| Fonte de Variação | GL | Quadrados Médios | | | | | | | |
|-------------------|----|------------------------|---------------------|------------------------|---------------------|-------------------------|-----------------------|--------------------------------------|---------------|
| | | AACPD de mancha-branca | | AACPD de cercosporiose | | AACPD de ferrugem comum | | Produtividade (kg ha ⁻¹) | |
| | | Ambiente 1 | Ambiente 2 | Ambiente 1 | Ambiente 2 | Ambiente 1 | Ambiente 2 | Ambiente 1 | Ambiente 2 |
| Repetição | 2 | 610,2 ^{NS} | 800,2 ^{NS} | 1.290,8* | 287,7 ^{NS} | 891,9 ^{NS} | 1.697,5 ^{NS} | 15.926.244,7* | 15.069.996,7* |
| Híbridos | 29 | 6508,4** | 6694,6** | 3.988,5** | 5.483,6** | 4.286,7* | 5.486,1** | 8.627.188,1** | 5.755.476,3* |
| Resíduo | 43 | 330,1 | 403,8 | 331,7 | 471,9 | 361,2 | 1.332,3 | 2.423.466,0 | 2.302.028,9 |
| CV (%) | | 11,61 | 15,29 | 16,38 | 16,57 | 12,73 | 30,20 | 15,67 | 16,51 |
| Média | | 156,55 | 131,45 | 111,17 | 131,11 | 149,39 | 120,83 | 9.936 | 9.188 |

^{NS}, *, ** = não significativo, significativo a 5% e 1%, respectivamente, pelo teste F.

Tabela 3A Coeficiente de correlação de *Sperman* entre as notas provenientes das análises de variância individuais e conjunta da severidade de mancha-branca, cercosporiose e ferrugem comum com a respectiva área abaixo da curva de progresso da doença (AACPC), aos 60, 70, 80, 90 e 100 dias após a emergência das plantas, em 30 híbridos de milho, avaliados em dois ambientes no município de Lavras - MG

| | AACPD de mancha-branca | | | AACPD de cercosporiose | | | AACPD de ferrugem comum | | |
|----------------------------|------------------------|------------------|------------------|------------------------|------------------|------------------|-------------------------|------------------|------------------|
| | Ambiente 1 | Ambiente 2 | Conjunta | Ambiente 1 | Ambiente 2 | Conjunta | Ambiente 1 | Ambiente 2 | Conjunta |
| 60 DAE (¹) | 0,76 (<0,001) | 0,60 (0,004) | 0,72 (<0,001) | 0,40 (0,0261) | 0,20 (0,2754) | 0,44 (0,014) | 0,69 (<0,001) | 0,05 (0,7568) | 0,57 (0,001) |
| 70 DAE | 0,78 (<0,001) | 0,72 (<0,001) | 0,79 (<0,001) | 0,64 (<0,001) | 0,83 (<0,001) | 0,83 (<0,001) | 0,69 (<0,001) | 0,38 (0,0347) | 0,56 (0,001) |
| 80 DAE | 0,96 (<0,001) | 0,95 (<0,001) | 0,97 (<0,001) | 0,95 (<0,001) | 0,94 (<0,001) | 0,97 (<0,001) | 0,94 (<0,001) | 0,92 (<0,001) | 0,94 (<0,001) |
| 90 DAE | 0,91 (<0,001) | 0,93 (<0,001) | 0,96 (<0,001) | 0,96 (<0,001) | 0,94 (<0,001) | 0,97 (<0,001) | 0,90 (<0,001) | 0,95 (<0,001) | 0,96 (<0,001) |
| 100 DAE | 0,90 (<0,001) | 0,88 (<0,001) | 0,93 (<0,001) | 0,91 (<0,001) | 0,93 (<0,001) | 0,94 (<0,001) | 0,90 (<0,001) | 0,95 (<0,001) | 0,95 (<0,001) |

(¹) DAE – dias após a emergência; () Entre parêntesis a probabilidade de significância pelo teste t.

Tabela 4A Dados de temperatura máxima (T máxima), temperatura mínima (T mínima), temperatura média (T média), precipitação (P) e umidade relativa (UR), coletados na estação meteorológica da UFLA, contemplando o período de avaliação da severidade das doenças mancha-branca, cercosporiose e ferrugem comum, em 30 híbridos de milho, avaliados em dois ambientes nos município de Lavras - MG

| Meses | T máxima (°C) | T mínima (°C) | T média (°C) | P (mm) | UR(%) |
|-----------|---------------|---------------|--------------|--------|-------|
| Janeiro | 27,28 | 18,02 | 21,69 | 529,20 | 75,57 |
| Fevereiro | 29,27 | 18,29 | 23,15 | 80,40 | 70,24 |
| Março | 28,64 | 17,74 | 22,25 | 133,10 | 73,28 |
| Abril | 27,57 | 17,12 | 21,51 | 38,80 | 76,15 |
| Média | 28,19 | 17,79 | 22,15 | 195,38 | 73,81 |