

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE AGRONOMIA**

**LUANNA GUIMARÃES GIROTTO**

**INFLUÊNCIA DA ADUBAÇÃO POTÁSSICA, ASSOCIADA A APLICAÇÃO DE  
FUNGICIDAS, NA SEVERIDADE DE GRÃOS ARDIDOS EM DIFERENTES  
HÍBRIDOS DE MILHO (*Zea mays* L.)**

**Uberlândia  
Outubro – 2010**

**LUANNA GUIMARÃES GIROTTO**

**INFLUÊNCIA DA ADUBAÇÃO POTÁSSICA, ASSOCIADA A APLICAÇÃO DE  
FUNGICIDAS, NA SEVERIDADE DE GRÃOS ARDIDOS EM DIFERENTES  
HÍBRIDOS DE MILHO (*Zea mays* L.)**

Trabalho de conclusão apresentado ao Curso de  
Agronomia, da Universidade Federal de  
Uberlândia, para obtenção do grau de Engenheiro  
Agrônomo.

Orientador: Renato Sérgio Pereira Borges

**Uberlândia  
Outubro - 2010**

**LUANNA GUIMARÃES GIROTTO**

**INFLUÊNCIA DA ADUBAÇÃO POTÁSSICA, ASSOCIADA A APLICAÇÃO DE FUNGICIDAS, NA SEVERIDADE DE GRÃOS ARDIDOS EM DIFERENTES HÍBRIDOS DE MILHO (*Zea mays* L.)**

Trabalho de conclusão apresentado ao Curso de Agronomia, da Universidade Federal de Uberlândia, para obtenção do grau de Engenheiro Agrônomo.

Aprovado pela Banca Examinadora em 19 de Outubro de 2010.

Prof. Dr. Césio Humberto de Brito  
Membro da Banca

Luíz Augusto Rodrigues  
Membro da Banca

---

Renato Sérgio Pereira Borges  
Orientador

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente agradeço à Deus pela dádiva da vida.

Agradeço à minha família, minha mãe Gilda e minha irmã Katymilla, pelas ajudas, opiniões e palavras amigas nas horas mais difíceis da minha vida.

A meu namorado, Thiago pelo apoio e compreensão de todas as horas.

Ao meu orientador Renato Sérgio pela oportunidade de trabalho, ajuda e tolerância durante todo desenvolvimento do trabalho.

Ao co-orientador Professor Dr. César, pela amizade e pelo trabalho desenvolvido.

Ao Luiz Augusto pela condução dos ensaios, resultados obtidos e amizade, pois sem a equipe Dow AgroSciences Indústria Ltda., não seria possível obter os resultados.

Obrigada por tudo.

## RESUMO

O objetivo do trabalho foi determinar a influência da adubação potássica, associada à aplicação de fungicidas, na severidade de grãos ardidos que são causados pelo complexo de fungos, em diferentes híbridos de milho. O experimento foi conduzido na Fazenda Chapada do Ipê, tendo como proprietário a empresa Dow AgroSciences Industrial Ltda., no município de Indianópolis – MG, com 945 m de altitude na safra 2008/2009. O ensaio foi fatorial (6x3x3x2), onde foram analisados seis híbridos (Híbrido 1, Híbrido 2, Híbrido 3, Híbrido 3Y, Híbrido 4 e Híbrido 4BT11), três umidades de colheita (35%, 25% e 15% de umidade), três doses de potássio (64 Kg.ha<sup>-1</sup>, 120 Kg.ha<sup>-1</sup> e 180 Kg.ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O) e dois níveis de aplicação de fungicida (com e sem). A parcela foi constituída de 4 linhas de 4 metros e o espaçamento entre linhas de 0,76m e 0,22m entre plantas, totalizando uma área experimental de 3192 m<sup>2</sup>. Os resultados foram obtidos analisando a densidade de colmo, a incidência de grãos ardidos (%) e a atividade da enzima lipoxigenase. A porcentagem de grãos ardidos e densidade de colmos foram influenciadas pelo tipo de híbrido e nível de adubação potássica, e ainda pela aplicação de fungicida. Observou-se uma tendência de maior atividade da enzima lipoxigenase entre os grupos de híbridos estudados, sendo maiores os valores obtidos no grupo de híbridos considerados tolerantes ao complexo “grãos ardidos”.

**Palavras chave:** híbridos, potássio, grãos ardidos.

## ABSTRACT

The objective was to determine the influence of potassium fertilization, associated with application of fungicides on the severity of ear are caused by complex fungi in different hybrids of corn. The experiment was conducted at the Hapada do Ipe Farm, whose owner is Dow AgroSciences Industrial Ltda., in the city of Indianapolis - MG, 945 m altitude in the 2008/2009 season. The trial was factorial (6x3x3x2), which analyzed six hybrids (Hybrid 1, Hybrid 2, Hybrid 3, Hybrid 3Y, Hybrid 4 and Hybrid 4BT11), three harvest moisture (35%, 25% and 15% humidity) three doses of potassium ( $64 \text{ kg ha}^{-1}$ ,  $120 \text{ kg ha}^{-1}$  and  $180 \text{ kg ha}^{-1} \text{ K}_2\text{O}$ ) and two levels of fungicide (with and without). The plot was 4 rows of 4 m, between rows, 0.76 m and 0.22 m between plants, totaling an experimental area of  $3192 \text{ m}^2$ . The results were obtained by analyzing the density of the stalk, the incidence of rot grains (%) and the activity of lipoxygenase enzyme. The incidence of rot grains and density of stalk were affected by hybrid type and level of potassium fertilization, and also by fungicide application. There was a trend for higher activity of lipoxygenase enzyme and, the greatest values in the group of complex hybrids tolerant to rot grains.

**Key words:** hybrids, potassium, rot grains.

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	7
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	9
2.1 Fisiologia da cultura de milho.....	9
2.2 Exigências nutricionais da cultura.....	11
2.3 Principais doenças do milho.....	12
2.3.1 Doenças foliares.....	12
2.3.1.1 Mancha Foliar de <i>Phaeosphaeria</i> (MFP).....	12
2.3.1.2 Mancha de Diplodia.....	13
2.3.2 Podridões de colmo e podridões de espiga.....	13
2.3.3 Influência da adubação nas doenças de milho.....	15
2.4 Atuação da enzima lipoxigenase nas doenças de milho.....	17
3 MATERIAL E METÓDOS.....	22
3.1 Localização e características da área experimental.....	22
3.2 Condução do ensaio: tratos culturais e disposição no campo.....	23
3.3 Avaliações.....	23
3.3.1 Avaliações de doenças.....	23
3.3.2 Avaliação de densidade de colmo.....	24
3.3.3 Avaliações de grãos ardidos.....	26
3.3.4 Avaliação bioquímica da atividade da enzima lipoxigenase.....	27
3.3.5 Avaliação de produtividade.....	29
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
4.1 Doenças foliares.....	30
4.2 Densidade de colmos.....	31
4.3 Grãos ardidos.....	35
4.4 Atividade da enzima lipoxigenase.....	39
4.5 Produtividade.....	42
5 CONCLUSÕES.....	45
REFERÊNCIAS.....	46
ANEXOS.....	54
Anexo A: Análise de solo.....	55
Anexo B: Tabela de doenças que foram avaliadas no final do ensaio.....	56

## 1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.), originário das Américas, é considerado uma das espécies vegetais mais utilizadas no mundo. Apresenta uma área de plantio anual de cerca de 142 milhões de hectares, os quais contribuem para a produção de aproximadamente 615 milhões de toneladas de grãos (FANCELLI, 2004). A produção brasileira de milho em 2008 (verão e safrinha) totalizou 58,6 milhões de toneladas e o consumo interno, 44,5 milhões de toneladas, segundo a CONAB. Segundo o mesmo autor, para a safra 2009/2010, estima-se foi de 7.724 mil hectares, com redução de (16,7%) em relação à área cultivada na primeira safra 2008/09 que foi de 9.270 mil hectares. A produtividade média prevista para a primeira safra, ficou em 4.412 kg/hectare, 21,5 % maior que à alcançada na safra 2008/09. O aumento se deve a maior produtividade prevista para o Centro-Sul, principalmente no Paraná e Rio Grande do Sul, que tiveram frustração da safra anterior, por conta das condições climáticas adversas, principalmente pela má distribuição das chuvas e ocorrência de períodos de estiagem na fase crítica do desenvolvimento da cultura.. Na produção mundial, o Brasil ocupa o terceiro lugar após os Estados Unidos e a China Continental, que são responsáveis por 70% desta produção (ALVES et al., 2001).

Embora haja a busca constante por uma maior diversidade no *rol* de culturas produzidas nacionalmente, o milho ainda continua sendo o cereal mais importante na produção agrícola brasileira, tanto no aspecto econômico quanto no social, já que a produção se diversifica entre grandes produtores e produção familiar. Este cereal é a principal fonte de alimento para criações, principalmente de suínos e aves, sendo também amplamente usado na alimentação humana (SILVA et al., 2004).

Os fertilizantes minerais representam o insumo mais importante para a produção agrícola nos solos tropicais, notadamente nos do Cerrado, visto que estes são, via de regra, originalmente ácidos e de baixa fertilidade. Este insumo, por outro lado, é de elevada importância econômica, podendo representar até 50% do custo de produção das principais culturas anuais (KLUTHCOUSKI; STONE, 2003).

Segundo Fancelli (2008), inúmeros são os fatores interferentes na produtividade das plantas cultivadas, todavia merecem especial destaque a presença de patógenos e insetos-praga, estes são responsáveis pela destruição de grande quantidades de alimentos e bens de sobrevivência, bem como amplificam significativamente os custos financeiros e energéticos da atividade agrícola. Alguns pesquisadores apontam como uma das principais causas para a

ocorrência e predisposição das plantas a doenças e pragas, o desequilíbrio nutricional (carência ou excesso), aliado ao estágio fenológico do hospedeiro e às condições climáticas reinantes no período, além do componente genético envolvido nos mecanismos de resistência e de tolerância.

Os grãos ardidos são aqueles que foram invadidos por vários fungos, desde o desenvolvimento da espiga no campo até no período de pós-colheita, quando estes se encontram armazenados. Assim, estes grãos podem ser considerados como fontes de sobrevivência e veiculação de patógenos, além de permitir a proliferação de fungos de armazenamento que podem acelerar a sua deterioração (LUCA FILHO, 1987; FERNANDES; OLIVEIRA, 1997). A invasão por fungos pode causar danos aos próprios grãos e sementes, dentre os quais pode-se citar perdas no poder germinativo e no vigor, descoloração, alteração do teor de ácidos graxos livres, aquecimento da massa de grãos e, um dos mais importantes, a produção de micotoxinas (CHRISTENSEN; MERONUCK, 1986; ATHIÉ et al., 1998).

Objetivou-se com este trabalho verificar a influência da adubação potássica, associada à aplicação de fungicidas, na severidade de grãos ardidos e na atividade da enzima lipoxigenase, sobre a severidade dos mesmos, em diferentes híbridos de milho.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

O milho (*Zea mays* L.) é a mais importante planta comercial com origem nas Américas. É uma espécie altamente politépica, com cerca de 300 raças e milhares de variedades. Sua cultura comercial está amplamente disseminada por todo o mundo, desde a latitude de 58° N (Federação Russa) a 40° S (Argentina), do nível do mar a 3.800 metros de altitude, apresentando raças e variedades específicas adaptadas às distintas condições ecológicas (PATERNIANI,1995).

No mundo ocupa, entre os cereais, o terceiro lugar na área semeada e em produção global, sendo apenas precedido pelas culturas do trigo e do arroz. Trata-se de um alimento básico largamente consumido no México e demais países da América Central, na Bolívia e Paraguai. No Brasil destina-se basicamente à alimentação animal, embora seja difícil encontrar alguém que dele não se alimente, por ser de emprego generalizado nos diversos segmentos da atividade humana (FORNASIERI FILHO, 1992).

### 2.1 Fisiologia da cultura de milho

O milho é uma planta do grupo C<sub>4</sub>, ou seja, a incorporação do CO<sub>2</sub> utiliza uma via adicional envolvendo moléculas de quatro carbonos. Desta forma, de acordo com Raven et al. (2001) a planta de milho deve expor o máximo de sua superfície ao sol para obter uma fotossíntese máxima, sendo que qualquer deficiência neste aparato pode resultar em perdas na conversão de CO<sub>2</sub> em compostos orgânicos assimilados. Além disso, o autor ressalta a alta eficiência dessa conversão em plantas do tipo C<sub>4</sub>, que é o caso do milho.

O milho possui elevado potencial produtivo e acentuada habilidade fisiológica na conversão de carbono mineral em compostos orgânicos, os quais são translocados das folhas e de outros tecidos fotossinteticamente ativos (fonte) para locais onde serão estocados ou metabolizados (dreno). Sendo assim, as relações fonte-dreno podem ser alteradas sobremaneira pelas condições de solo, clima, estágio fisiológico e nível de estresse da cultura (TOLLENAAR, 1997; FANCELLI, 2000).

Fancelli (1988) comprova a alta eficiência da planta de milho na conversão de energia radiante e, conseqüentemente, na produção de biomassa, mostrando que uma semente que

pesa, em média, 260 mg resulta, em um período de tempo próximo de 140 dias, cerca de 0,8 a 1,2 kg de biomassa por planta e 180 a 250 g de grãos por planta, multiplicando, aproximadamente, 1000 vezes o peso da semente que a originou.

Desde que a folha é o órgão onde ocorrem as maiores trocas de energia e gases entre o meio e a planta, é importante conhecer a influência da sua disposição, orientação, tamanho, propriedades óticas, sintetizadas na arquitetura do dossel, sobre o meio físico, e as conseqüências dessa interação nos processos que se desenvolvem desde a escala celular até de cultura são fundamentais para se estabelecer manejos fitotécnicos baseados no conhecimento científico (ROMANO, 2005).

Considerando o sentido ascendente da planta, a área de cada folha cresce atingindo uma área máxima na altura da espiga, passando, então, a decrescer até o ápice da planta, que apresenta as folhas de menor área (ALLISON; WATSON, 1966). E embora apresente menor área, essas folhas são consideradas por muitos autores como as principais responsáveis pelo enchimento de grãos.

As folhas inseridas nas várias posições do colmo contribuem diferentemente no suprimento de metabólitos para as demais partes da planta. Em geral, as raízes recebem produtos fotossintetizados, principalmente das folhas basais, enquanto os órgãos e tecidos, localizados na parte apical, são supridos pelas folhas superiores. Cerca de 50% dos carboidratos acumulados nos grãos de milho, são proveniente das folhas localizadas no terço superior da planta. Aproximadamente 30% dos carboidratos representam a contribuição das folhas do terço médio e o restante provém das folhas distribuídas na parte mais basal do colmo (FORNASIERI FILHO, 1992).

A redução no rendimento do milho nas mais variadas condições está associada à duração do período de enchimento de grãos. Em regime de elevadas temperaturas diurnas (>35°C) e noturnas (>24°C) a taxa de acumulação de matéria seca nos grãos e a duração do período de enchimento são reduzidos. Tal período também poderá ser encurtado, segundo Afuakwa et al. (1984), em função da redução do suprimento de sacarose das folhas, provocada pela desfolha ou pela elevação do nível de estresse imposto à planta.

Dos fatores externos que limitam o ‘aparato fotossintético’ da planta, causando perdas de área foliar e conseqüentes perdas de rendimento, podemos citar as doenças foliares como as ferrugens (*Puccinia sorghi*, *Physopella zaeae*, *Puccinia polysora*), as Helminthosporioses (*Exserohilum turcicum*, *Bipolaris maydis*, *Helminthosporium carbonum*), o complexo de mancha branca (*Phaeosphaeria maydis*), a Antracnose (*Colletotrichum graminicola*), a Mancha de diplodia (*Stenocarpella macrospora*), dentre outras, as pragas como Curuquerê

dos capinzais (*Macis latipes*), Lagarta do cartucho (*Spodoptera frugiperda*), Lagarta elasmó (*Elasmopalpus lignosellus*) e Larva alfinete (*Diabrotica speciosa*) ou ainda fenômenos climáticos drásticos como granizo e geadas (FANCELLI; DOURADO NETO, 2004).

Há pouca informação conclusivas sobre os efeitos de restrições ao aparato fotossintético da planta através da desfolha na ocorrência de doenças (DENTI; REIS, 2001). Mas, sabe-se que os estresses por desfolhamento alteram a relação fonte-dreno das plantas, com reflexos na redução do rendimento (DAROS, 2000).

## 2.2 Exigências nutricionais da cultura

De acordo com a Embrapa Milho e Sorgo (2007), considera-se que a fertilidade do solo seja um dos principais fatores responsáveis pela baixa produtividade das áreas destinadas tanto para a produção de grãos como de forragem. Esse fato não se deve apenas aos baixos níveis de nutrientes presentes no solo, mas também ao uso inadequado de calagem e adubações, principalmente com nitrogênio e potássio, e também à alta capacidade extrativa do milho colhido para a produção de forragem. Segundo o mesmo autor, observa-se que a extração de nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca) e magnésio (Mg) aumentam linearmente com o aumento da produtividade da cultura e que as maiores exigências nutricionais do milho referem-se ao N, K seguindo-se de Ca, Mg e P.

De acordo com Fornasieri Filho (2007), depois do nitrogênio, o potássio (K) é o nutriente absorvido em maiores quantidades pelo milho (cerca de  $23 \text{ kg.t}^{-1}$  de grãos), dos quais 20% são exportados nos grãos. A sua taxa de absorção é relativamente lenta até 30 dias após a emergência das plântulas, aumentando consideravelmente a partir deste período, mantendo-se constante por um período de 20 a 25 dias, ou seja, até a planta atingir o estágio de 12 a 14 folhas.

Os nutrientes têm diferentes funções e cada é um requerido em uma quantidade adequada para que a cultura de milho tenha ótimo desempenho. A maneira de translocação nos tecidos pode ser através do colmo, folhas e grãos. No que se refere aos nutrientes N, S e Mg são quase todos transportados para os grãos, exceto os dois últimos que são pouco exportados. Isto implica que a incorporação dos restos culturais do milho devolve ao solo grande parte dos nutrientes, principalmente K e Ca, contidos na palhada (COELHO, 2007).

## 2.3 Principais doenças do milho

As doenças representam relevante fator de redução de produtividade e lucratividade na agricultura. Basicamente, a ocorrência de doenças está em função da interação de três fatores: (I) planta ou hospedeiro suscetível; (II) patógenos específicos e (III) ambiente favorável para sua manifestação (FANCELLI; DOURADO NETO, 2000).

### 2.3.1 Doenças foliares

Estas doenças resultam em mal funcionamento e destruição de tecido fotossintético, prejudicando a interceptação da radiação solar e translocação de fotoassimilados para o desenvolvimento de grãos (REIS et al., 2004).

#### 2.3.1.1 Mancha Foliar de *Phaeosphaeria* (MFP)

Estudos recentes indicam que o agente causal desta doença como sendo a bactéria *Pantoea ananas*. O fungo *Phaeosphaeria maydis* é um fungo oportunista que se aloja nas lesões pré-estabelecidas pela bactéria. Esta doença está relacionada com altitudes acima de 600m, com temperaturas moderadas e umidade relativa elevada, preferencialmente com água livre na superfície da folha. Além da intensidade, o dano econômico vai depender do estágio de desenvolvimento no qual a planta é infectada. Os sintomas da doença caracterizam-se pela presença, nas folhas, de lesões cloróticas, de cor esbranquiçada e bordos escuros, arredondadas a oblongas, com diâmetro de até 2 cm. No início, essas lesões são aquosas (tipo anasarca) de cor verde-claro. Em geral, os sintomas aparecem primeiro nas folhas inferiores, progredindo rapidamente em direção ao ápice da planta, e são mais severos após o pendoamento. Em condições favoráveis, essa doença pode causar seca prematura das folhas e redução no ciclo da planta (PEREIRA, 1997; RESENDE et al., 2003a; REIS et al., 2004).

### 2.3.1.2 Mancha de Diplodia

No Brasil, a ocorrência da doença foi relatada pela primeira vez por Johann (1935), no estado de São Paulo, causando podridão em sementes. Porém, os sintomas de mancha foliar somente foram relatados em 1973, na Bahia (RAM et al., 1973). São causadas pelo fungo *Stenocarpella macrospora* anteriormente conhecida como *Diplodia macrospora*.

Esta doença tem ocorrido freqüentemente nas lavouras de milho conduzidas em monocultura. Apesar de infectar as folhas e, em muitas situações dilacerar o tecido foliar necrosado, o dano parece ser mais grave em virtude da grande produção de inóculo sobre lesões, o qual contribui para a infecção do colmo e da espiga (REIS et al., 2004).

### 2.3.2 Podridões de colmo e podridões de espiga

Por se tratar de uma cultura amplamente cultivada no Brasil, ocupando as mais diversas condições climáticas, a cultura do milho está sujeita ao ataque de um elevado número de doenças (FERNANDES; OLIVEIRA, 2000). Atualmente, com o incremento do plantio de milho em áreas irrigadas, a adoção do plantio direto, muitas vezes associado ao cultivo sucessivo do milho em uma mesma área, ou seja, o plantio de verão, o plantio de safrinha e o plantio de inverno (irrigado), criaram-se condições ideais para o desenvolvimento de várias doenças, antes consideradas secundárias (BRANDÃO, 2002). Dentre as que mais afetam a cultura do milho no Brasil, estão as podridões de colmo e as podridões de espiga. Embora conhecidas a muito tempo, essas doenças vêm ganhando destaque nos últimos anos pelo aumento de sua incidência e pelas perdas provocadas na produtividade. São causados por um complexo de fungos dos quais os mais frequentemente detectados são *Fusarium moniliforme*, *Gibberella zaeae*, *Stenocarpella maydis* e *Stenocarpella macrospora*.

Como regra, os fungos causadores das podridões de colmo, são também responsáveis pelas podridões de espiga que causam os chamados grãos ardidos. Os mecanismos de infecção dos grãos na espiga podem ocorrer via estilo-estigma, por meio da germinação de ascósporos e/ou conídios formando o tubo germinativo que cresce até atingir o ovário. Outro mecanismo é a penetração direta do fungo na ponta e/ou base da espiga e sistematicamente

pelo micélio do fungo via planta mãe durante a formação de espiga e dos grãos (SMITH; WITHE, 1988; BENSCH, 1995; REID et al., 1996; WITHE, 1999).

As podridões da espiga envolvem o ataque direto dos fungos aos grãos que podem exibir sintomas da colonização. Alguns grãos com essa sintomatologia são denominados comumente de grãos ardidos. Além do rendimento dos grãos, a presença de grãos ardidos, também reduz a qualidade dos grãos colhidos. Muitos fungos causadores de podridões da espiga produzem micotoxinas que podem afetar o valor econômico do grãos e o valor nutricional da ração (MOLIN; VALENTINI, 1999; REIS; CASA, 1999). Por isto, na comercialização do milho é descontado do preço oferecido um percentual correspondente a incidência de grãos ardidos.

Grãos ardidos são aqueles que foram invadidos por vários fungos, desde o desenvolvimento da espiga no campo até no período de pós-colheita, quando estes se encontram armazenados. Assim, estes grãos podem ser considerados como fontes de sobrevivência e veiculação de patógenos, além de permitir a proliferação de fungos de armazenamento que podem acelerar a sua deterioração (LUCA FILHO, 1987; FERNANDES; OLIVEIRA, 1997). A invasão por fungos pode causar danos aos próprios grãos e sementes, dentre os quais pode-se citar perdas no poder germinativo e no vigor, descoloração, alteração do teor de ácidos graxos livres, aquecimento da massa de grãos e, um dos mais importantes, a produção de micotoxinas (CHRISTENSEN; MERONUCK, 1986; ATHIÉ et al., 1998).

As perdas qualitativas por grãos ardidos são motivos de desvalorização do produto e uma ameaça à saúde dos rebanhos ou mesmo humana (CALDASSO et al., 1998). Como padrão de qualidade têm-se, em algumas agroindústrias, a tolerância máxima de 6% para grãos ardidos em lotes comerciais de milho (MENEGAZZO, 1998). Lotes de milho com 5% ou mais de grãos infectados com *Fusarium* sp. foram suficientes para causar problemas alimentares em suínos. Por outro lado, há trabalhos mostrando diferença significativa entre cultivares de milho em relação à tolerância de grãos ardidos (PINTO, 2000; 2001; 2003).

No Brasil, Nazareno (1989), detectou incidência de 15 a 85% de grãos ardidos e danos no rendimento de grãos de 12 a 40%. Posteriormente, Reis et al. (1998) e Denti & Reis (2003), determinaram incidência de grãos ardidos de 4 a 72% com danos variando na produtividade de 0,67 a 50%, dependendo do ano, local e genótipo, correspondendo a uma perda média anual, estimada no Sul do Brasil, de US\$ 415 milhões.

### 2.3.3 Influência da adubação nas doenças de milho

Os efeitos dos nutrientes minerais no crescimento e produção são usualmente estudados em termos das suas funções no metabolismo das plantas. Além disto, a nutrição mineral pode também influenciar o crescimento e a produção das plantas cultivadas de forma secundária causando modificações na forma de crescimento, na morfologia, na anatomia e na sua composição química (COLHOUM, 1973). Os nutrientes minerais podem também aumentar ou diminuir a resistência das plantas aos patógenos. A resistência pode ser aumentada por modificações na anatomia (células da epiderme mais grossas, lignificadas e/ou silificadas) e nas propriedades fisiológicas e bioquímicas (produção de substâncias inibidoras ou repelentes). A resistência pode particularmente ser aumentada pela alteração nas respostas das plantas aos ataques de parasitas, aumentando as barreiras mecânicas (lignificação) e a síntese de compostos tóxicos (MARSCHNER, 1986).

A necessidade de elementos necessários a sobrevivência para sintetizar barreiras físicas e químicas, ou o desvio de elementos dentro “cul-de-sac” (fundo de saco) em volta dos locais de infecção, podem resultar em susceptibilidade à doença. De contraste, a resistência pode ser transmitida pela falta de nutrientes essenciais para a atividade patogênica (HUBER, 1985).

Assim, Huber (1985) ainda afirma que, elementos minerais são diretamente envolvidas em todos os mecanismos de defesa como componentes integrais de células, substratos, enzimas e transportadores de elétrons, ou como ativadores, inibidores, e reguladores do metabolismo. Todos os elementos minerais essenciais são considerados importantes em relação à incidência ou severidade de doenças. O efeito dos nutrientes em doenças é determinado por : a) efeito da fertilização mineral na severidade da doença; b) comparação das concentrações de elementos nos tecidos de cultivares resistentes e susceptíveis; c) correlação entre condições que influenciam a disponibilidade de minerais com a incidência ou severidade de doenças; d) combinação de todos os elementos em conjunto (HUBER, 1990a).

Assim os elementos minerais estão envolvidos em todos os mecanismos de defesa como componentes integrais ou ativadores, inibidores e reguladores do metabolismo. Portanto, o conhecimento da fonte e função de elementos minerais na planta torna-se necessário antes de se estudar seu papel na resistência. Treze elementos minerais (N, P, K, Ca, Mg, S, B, Cu, Fe, Mn, Mo, Zn e Cl) são consideradas essenciais para o crescimento das plantas. A deficiência ou excesso de um elemento influencia, grandemente a atividade de

outros e exerce efeito marcante, com conseqüências que repercutem no metabolismo da planta. Também deve ser lembrado que a presença de um elemento no solo não implica necessariamente que está suficientemente disponível para o crescimento da planta. Sua disponibilidade é função da quantidade do elemento no solo, da sua forma e sua solubilidade, da capacidade assimilativa da planta e condições do meio ambiente tais como pH, umidade e temperatura (HUBER, 1980).

Os efeitos do N, P, e K nas doenças tem sido relatadas extensivamente, por causa da limitada disponibilidade desses nutrientes em muitos solos devido a grande quantidade requerida para o ótimo crescimento da planta. O nutriente específico pode promover algumas doenças enquanto outros podem reduzir (HUBER, 1980). A resposta da doença também pode ser independente do vigor ou de crescimento generalizado. A maior resposta para os elementos minerais é geralmente com resistência moderada ou tolerante das plantas, enquanto a reação da doença de alta resistência ou alta susceptibilidade de plantas não podem ser alteradas tão rapidamente pela nutrição (HUBER, 1985).

Ao contrário do que ocorre com os fertilizantes nitrogenados, a maioria das evidências científicas relacionadas ao uso do K converge para sua influência na tolerância a inúmeras pragas e doenças parasitas obrigatórios e facultativos, (FANCELLI, 2008). O efeito do K, frequentemente, está restrito à faixa de deficiência do elemento, visto que plantas deficientes em potássio são mais susceptíveis a pragas e doenças do que aquelas que apresentam concentrações suficientes desse elemento (HUBER; ARNY, 1985). Como norma geral, a susceptibilidade diminui (ou a resistência aumenta) na mesma proporção em que o crescimento da planta responde ao aumento do suprimento de potássio (MARSCHNER, 1986; PENNYPACKER, 1990).

A habilidade do K em decrescer a severidade de muitas doenças tem induzido a fertilização com o mesmo para controle de doenças. Diferentemente da maioria dos outros elementos essenciais, o K não se torna um componente estrutural da planta e ocorre principalmente como sais solúveis orgânicos ou inorgânicos. O K atua como um regulador móvel de atividades de enzima, isso é envolvido em essencialmente todas as funções celulares, incluída fotossíntese, fotofosforilação, síntese de proteína, translocação, manutenção de água, redução de nitratos e reprodução. O balanço do nível de K induz o espessamento das paredes celulares, acumulação de ácido amino (arginina), e produção de novos tecidos (HUBER, 1985).

A fertilização com potássio tem sido recomendada geralmente para reduzir a severidade das podridões de colmo do milho. Contudo, resultados inconsistentes tem sido

relatados por causa dessa doença poder ser causadas por muitos patógenos, por exemplo, *Diplodia zae*, *Gibberella zae*, *Fusarium moniliforme*, *Pythium* sp., e *Colletotrichum graminicola*, as quais podem responder a diferentes fertilizações de K. Atenção particular tem sido devotada para o balanço dos nutrientes e razão N:K. A podridão do caule cresce com o aumento dos níveis de N apenas quando os níveis de K estão baixos (WARREN et al., 1975).

A podridão do colmo de *Stenocarpella* é reduzida com as aplicações de cloreto de potássio (KCl), com sulfato de amônio ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) ou cloreto de amônio (NH<sub>4</sub>Cl), enquanto taxas similares de nitrato de potássio (KNO<sub>3</sub>) aumentam severamente essa doença, e sulfato de potássio (K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) ou (KPO<sub>3</sub>)<sub>6</sub> tem pouco efeito na podridão do colmo. Outros patógenos de podridão do colmo tem efeitos diferenciados, como a *Stenocarpella* e *Gibberella*, muito dessa confusão gerada na literatura poderia ser evitada se os patógenos, juntamente com os seus sintomas, fossem identificados (HUBER, 1985).

É conhecido o efeito do K na redução do acamamento de plantas de milho devido ao quebramento do colmo. O menor acúmulo de matéria seca nos colmos durante o desenvolvimento das plantas de milho cultivadas sem K resulta em aumento da porcentagem de colmos quebrados. Plantas bem supridas neste nutriente são capazes de produzir fotossintetatos suficientes para alta produtividade e também para mantê-los em níveis adequados no colmo, evitando o colapso prematuro do tecido parenquimático (BULL, 1993).

A elevada susceptibilidade de plantas deficientes em K a certas doenças está relacionada com as funções metabólicas desse elemento. Em plantas deficientes, a síntese de compostos de elevado peso molecular (proteína, amido e celulose), é diminuída, enquanto que compostos orgânicos de baixo peso molecular acumulam-se. Em plantas deficientes em K, um aumento no seu fornecimento conduz a um aumento no crescimento e diminuição no conteúdo de compostos orgânicos de baixo peso molecular, até o ponto em que o crescimento é máximo. Por outro lado, aumentos no nível de K na planta, além de ótimo, não causam efeitos substanciais nos constituintes orgânicos e nem na resistência a doenças (ZAMBOLIN; VENTURA, 1996).

#### **2.4 Atuação da enzima lipoxigenase nas doenças de milho**

As lipoxigenases (LOXs) são isoenzimas que estão amplamente distribuídas em plantas e animais superiores. Elas catalisam a adição do oxigênio molecular ao sistema

pentadieno dos ácidos graxos polinsaturados, formando hidroperóxidos dos ácidos graxos correspondentes e contêm ferro não-heme, que é necessário para sua atividade catalítica (AXELROD et al., 1981; MACK et al., 1987; VICK; ZIMEMAN, 1987; BUNKER et al., 1995).

Elas, as LOXs, estão presentes em mais de 60 espécies de plantas superiores. Os níveis das diferentes isoenzimas variam consideravelmente entre os diferentes órgãos da planta. Tecidos em crescimento geralmente apresentam altos níveis de lipoxigenases, como também, tecidos em senescência (SIEDOW, 1991).

As lipoxigenases vegetais utilizam ácido linolênico (C18:3) ou ácido linoléico (C18:2) como substrato e estão envolvidas na biossíntese de compostos regulatórios, tais como ácido traumático e ácido jasmônico (ANDERSON et al., 1989; FARMER; RYAN, 1992; BURNEK et al., 1995), o crescimento e desenvolvimento (HILDEBRAND, 1989; SIEDOW, 1991), senescência (ROUET-MAYER et al., 1992), germinação de sementes (PARK et al., 1994), respostas a ferimento (VIEIRA et al., 2001), reserva vegetativa (TRANBARGER et al., 1991; BUNKER et al., 1995; STEPHENSON et al., 1998) e resistência a insetos e patógenos (BELL; MULLET, 1993; MELAN et al., 1993; CROFT et al., 1993; SARAVITZ; SIEDOW, 1996; HELTZ et al., 1997; BOHLAND et al., 1997; FIDANTSEF; BOSTOCK, 1998; SILVA, 1999).

Durante um processo de estresse, ocorrem danos físicos às células e, em razão disso, uma degradação sequencial de lipídeos pode ser iniciada pelas lipoxigenases. Essas formam hidroperóxidos de ácidos graxos, que são rapidamente metabolizados para formar vários produtos. Dentre esses, estão a traumatina, envolvida na resposta a ferimentos e na indução da divisão celular e formação de calos (SIEDOW, 1991), o ácido jasmônico, associado à ativação de genes que codificam para a síntese de proteínas de reserva e inibidores de proteases (MELAN et al., 1993), os aldeídos voláteis e oxiácidos, que causam efeito inibitório sobre o crescimento de fungos patogênicos (VAUGHN; GARDNER, 1993), insetos e protozoários (CROFT et al., 1993). Esses aldeídos possivelmente agem também como um sinal químico na atração dos inimigo naturais dos herbívoros (PARÉ ; TUMLINSON, 1997).

No processo de infecção dos grãos, muitas espécies de fungos podem, além dos danos físicos, produzir substâncias tóxicas denominadas de micotoxinas. Estas por sua vez, são metabólitos secundários capazes de produzir efeitos tóxicos agudos ou crônicos tanto em animais quanto em humanos. Porém, muito pouco tem sido pesquisado a respeito da quantificação dessas micotoxinas em cultivares de milho disponíveis no mercado. É

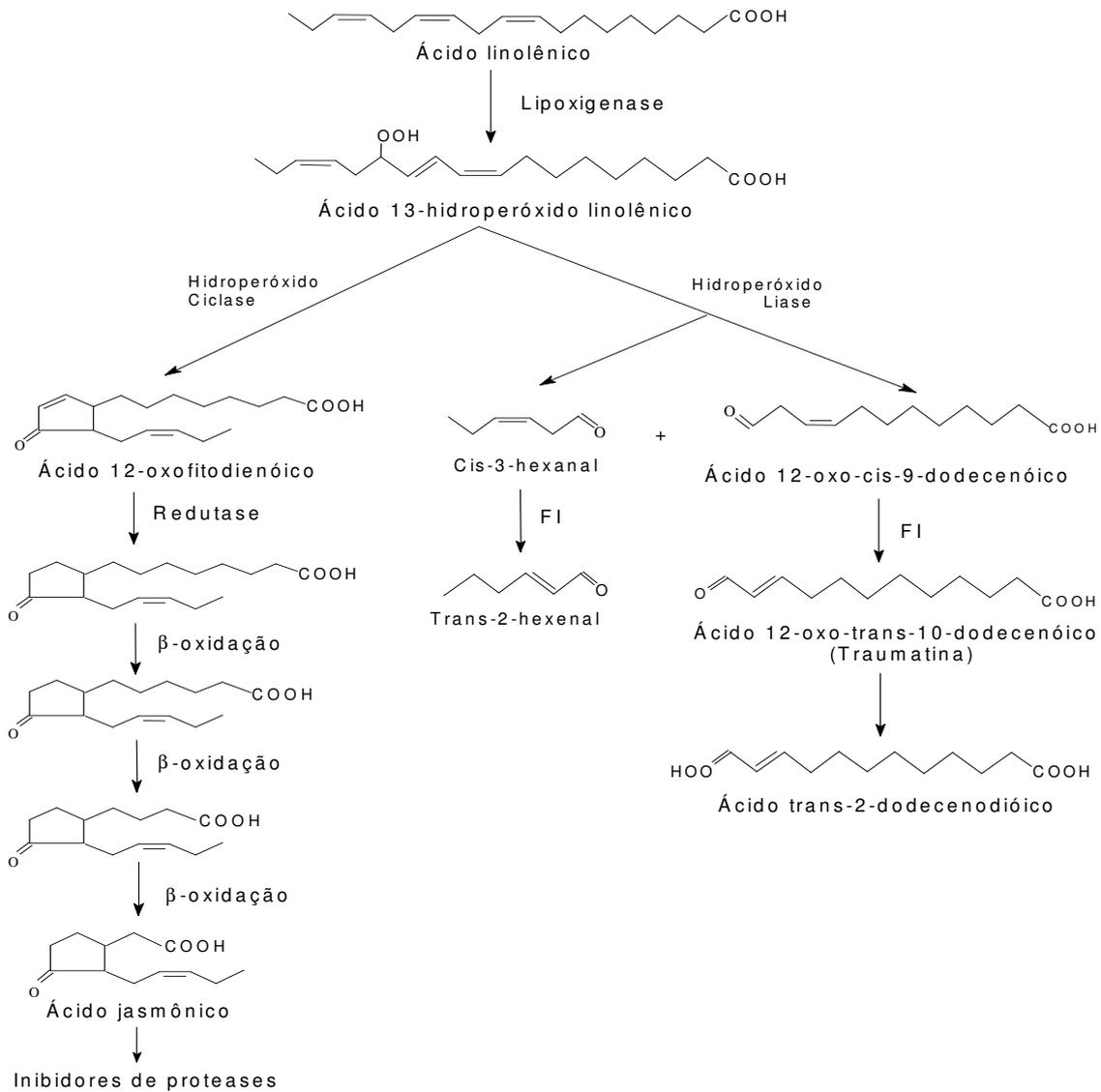
importante ressaltar ainda que a presença de micotoxinas em grãos tem restringido a comercialização de milho (MENDES, 2009).

Segundo o mesmo autor, estudos recentes a respeito da associação de ácidos graxos de cadeia longa, como ácido linoléico e linolênico, na biossíntese de compostos regulatórios que induzem a resistência de fungos, tem chamado a atenção de pesquisadores. Porém é importante enfatizar que há necessidade de estudos nos quais sejam associados a presença desses compostos com a atividade de enzimas, como a lipoxigenases. Esses estudos serão de grande valia para o entendimento da resistência de híbridos de milho aos fungos causadores de grãos ardidos.

Grãos de milho, com grau de umidade inferior a 13% não apresentam condições favoráveis ao desenvolvimento de fungos, no entanto, em graus de umidade, acima de 17%, associada à temperaturas de 25 à 30°C, ocorre alta produção de fungos e conseqüentemente de micotoxinas. A resistência de genótipos de milho a grãos ardidos está relacionada também com o teor de ácidos graxos poliinsaturados, mais exatamente ao ácido linoléico (SANTPÚRIO, 2003). O mecanismo de resistência se dá por meio da produção de enzimas LOX (Lipoxigenase). As LOX catalisam a dioxigenação estereoespecífica de ácidos graxos poliinsaturados contendo um sistema cis, cis-1,4-pentadieno com formação dos respectivos derivados hidropéroxidos, originando, assim, moléculas reativas com atividades fisiológicas pronunciadas (VICK; ZIMMERMAN, 1983).

Duas principais vias para o metabolismo dos hidropéroxidos de ácidos graxos produzidos pelas lipoxigenases, chamadas de Via das Lipoxigenases, vêm sendo estudadas para plantas superiores (Figura 1). Essa via envolve a ação de duas enzimas, ou seja, hidropéroxido liase que produz aldeídos de seis carbonos, como o trans-2-hexenal (componente que dá a característica sabor e odor de frutos e folhas), e a hidropéroxido ciclase, que produz o ácido 12-oxo-fitodienólico, que, após uma redução e três  $\beta$ -oxidações, dá origem ao ácido jasmônico, que tem atividade de fito-hormônio e está envolvido na regulação dos processos de desenvolvimento, bem como na resposta da planta a injúria e patógenos, ou seja, indução de expressão de genes que codificam inibidores de proteases (CROFT et al., 1993; FARMER; RYAN, 1992). Após a ação da hidropéroxido liase, pode ocorrer a produção de aldeídos, os quais podem inibir o crescimento de fungos, insetos e protozoários (CROFT et al., 1993), podendo também agir como um sinal químico para a planta doente (PARÉ; TULMLINSON, 1997). Essa via também pode produzir traumatina, conhecida como hormônio relacionado ao processo de infecção, que pode estar envolvida no processo de sinalização e divisão celular em resposta a ferimentos em plantas. Já a hidropéroxido ciclase

catalisa a formação de ácidos graxos cíclicos derivados do ácido 13- hidroperoxilinolênico, que são precursores da síntese de ácido jasmônico. Esse possui atividade de fitorregulador e está envolvido em processos de desenvolvimento, bem como na resposta da planta a insetos e patógenos, induzindo à síntese de genes que se expressam para inibidores de proteases (FARMER ; RYAN, 1990; 1992).



**Figura 1:** Via bioquímica das lipoxigenases mostrando parte das reações em cascata a partir do ácido linolênico. FI: fator de isomerização (CROFT et al., 1993; GARDNER, 1991; FARMER ; RYAN, 1992).

Quando tecidos de plantas são danificados por patógenos ou mecanicamente, ocorre uma degradação sequencial de lipídeos que são produtos primários da reação das lipoxigenases. Essas enzimas se ativam e oxidam os ácidos graxos linoléico e linolênico, produzindo uma determinada concentração de aldeídos e compostos voláteis que inibem a formação e o desenvolvimento de fungos e as conseqüentes micotoxinas (KIM et al., 2002; WRIGHT et al., 2000; ZERINGUE et al., 1989; 1990; 1996).

Uma vez que o envolvimento das isoenzimas de lipoxigenases no mecanismo de defesa de plantas contra injúrias causadas por insetos-praga tem sido descrito, torna-se cada vez mais importante a caracterização bioquímica e cinética dessas isoenzimas, em especial daquelas presentes nas folhas; esta caracterização será útil para o esclarecimento das funções bioquímico-genéticas e fisiológicas relacionadas às funções de defesa das plantas contra danos causados por insetos-praga e patógenos para a regulação do metabolismo vegetal pela via das lipoxigenases.

Estudos relacionados à influência de compostos químicos, atividade de enzimas específicas em grãos de milho sobre a resistência de genótipos associados aos patogênicos causadores de grãos ardidos são muito escassos.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Localização e características da área experimental

O experimento foi conduzido na estação de pesquisa da Dow AgroSciences Industrial Ltda., em Indianópolis – MG, na safra agrícola 2008/2009. Os híbridos, bem como os tratamentos culturais utilizados estão apresentados na Tabela 1. Estes tratamentos foram realizados de acordo com a análise de solo (Anexo A), realizada no talhão onde foi conduzido o ensaio. Foi utilizado o delineamento de blocos casualizados com 3 repetições, sob esquema fatorial 6x3x3x2, sendo 6 híbridos, 3 umidades de colheitas, 3 níveis de adubação com K<sub>2</sub>O e 2 níveis de aplicação de fungicida. Procurou-se utilizar 2 isohíbridos, um com o evento Yieldgard (Y) e outro com o evento Agrisure (BT11), a fim de verificar se a tecnologia Bt reduz a incidência de grãos ardidos. Na escolha dos híbridos procurou-se trabalhar com híbridos previamente conhecidos comercialmente como tolerantes ou sensíveis a grãos ardidos. Assim, os híbridos 1, 4 e 4BT11 foram escolhidos por serem tolerantes a grãos ardidos e os demais susceptíveis.

**Tabela 1:** Híbridos e tratos culturais utilizados no trabalho de seleção e controle de grãos ardidos em milho. Dow AgroSciences, Indianópolis, MG, 2010.

Híbrido	Níveis de K <sub>2</sub> O	Fungicida	Umidade de colheita
Híbrido 1	64 Kg	Com	30% de Umidade
Híbrido 2			
Híbrido 3	120 Kg	Sem	25% de Umidade
Híbrido 3Y			
Híbrido 4	180 Kg	Sem	15% de Umidade
Híbrido 4BT11			

### **3.2 Condução do ensaio: tratos culturais e disposição no campo**

Todos os híbridos foram semeados no dia 28/11/2008 com adubação base de 400 Kg.ha<sup>-1</sup> de NPK 08-28-16. As sementes foram tratadas com fungicidas e inseticidas registrados para a cultura.

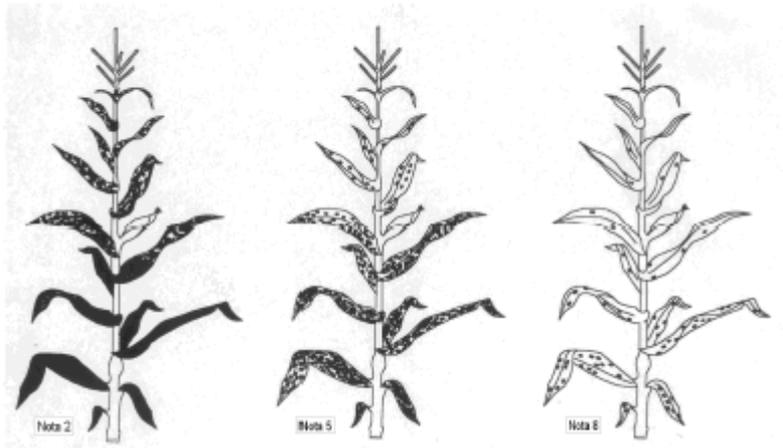
A adubação de cobertura foi realizada no dia 23/12/2008 quando as plantas encontravam-se no estágio V<sub>4</sub> a V<sub>5</sub>, ou seja com quatro a cinco folhas completamente abertas. Utilizou-se uréia, como fonte de nitrogênio e cloreto de potássio (KCl), como fonte de K, sendo que a primeira a ser realizada foi a aplicação de potássio e depois a de uréia.

Realizaram-se aplicações de defensivos preventivos com Piori Xtra (0,30 L.ha<sup>-1</sup>) mais Nimbus (0,5 % em volume), no estágio V<sub>9</sub> e Opera (0,75 L.ha<sup>-1</sup>) com vazão de 150 L.ha<sup>-1</sup> no pré-florescimento da cultura. A aplicação de inseticidas foi a medida que se manifestasse qualquer possibilidade de infestação através de monitoramento constante da área.

### **3.3 Avaliações**

#### **3.3.1 Avaliações de Doenças**

A avaliação das doenças foliares ocorreu aos 110 dias após a semeadura, com determinação visual da área afetada. Para tanto, foram avaliadas plantas dentro de cada parcela experimental aleatoriamente. O percentual de área foliar afetada pela doença foi convertido em nota na escala de 1 a 9 (Figura 2), onde: nota 1 (90 a 100% de dano, representando maior severidade), nota 2 (70 a 90% de dano), nota 3 (60 a 70% de dano), nota 4 (50 a 60% de dano), nota 5 (40 a 50% de dano), nota 6 (30 a 40% de dano), nota 7 (20 a 30% de dano), nota 8 (10 a 20% de dano) e nota 9 (0 a 10% de dano, representando menor severidade).



**Figura 2:** Escala diagramática para avaliação de doenças foliares.

### 3.3.2 Avaliação de Densidade de Colmo

As avaliações de doenças de colmo ocorreram nas colheitas. Amostras de colmo foram coletadas, sendo 10 colmos cortados na base, ficando apenas 5 internódios (Figura 3). Determinou-se a incidência de doenças da base do colmo (DBC).

Para o cálculo das densidades dos colmos, foi usado o mesmo procedimento adotado por Lima (2008). Segundo este procedimento, o diâmetro de colmo foi determinado pela média entre as medidas na altura do segundo entrenó expandido acima do solo e na altura da inserção da espiga de 10 plantas, dentro da área útil da parcela. Para fazer a medição do diâmetro do colmo utilizou-se paquímetro eletrônico (Figura 4). Mediu-se o diâmetro maior, diâmetro menor, comprimento e massa desses colmos, a fim de determinar a densidade dos mesmos. O comprimento foi determinado por meio de fita métrica, sendo que o diâmetro e o comprimento medidos individualmente para cada colmo. A massa foi obtida para os 10 colmos.



**Figura 3:** Colmos com 5 entrenós e o peso dos colmos.



**Figura 4:** Medias de comprimento, diâmetro com paquímetro e análise de doenças da base do colmo.

Para o cálculo da densidade foi obtido primeiramente o volume total dos dez colmos. Para tal, inicialmente foi calculada a área da seção transversal de cada colmo, considerado de formato elíptico.

$$A_s = D \times d \times \pi \dots\dots\dots \text{dm}^2$$

$$A_s = \text{área da seção transversal da elipse} \dots\dots\dots \text{dm}^2$$

$$D = \text{diâmetro maior da elipse} \dots\dots\dots \text{dm}$$

$$d = \text{diâmetro menor da elipse} \dots\dots\dots \text{dm}$$

Após a medição de cada área da secção transversal foi obtida uma área média para a amostra e multiplicada pela média dos comprimentos, obtendo assim o volume médio da amostra. Por fim, foi obtida a densidade média dos colmos pela pelo quociente da massa média (g) e o volume médio (dm<sup>3</sup>) da amostra.

$$Dc = \frac{M_{(g)}}{As \times C}$$

Dc = densidade do colmo .....g.dm<sup>-3</sup>

M = massa da amostra de 10 colmos .....g

As = área da secção transversal da elipse .....dm<sup>2</sup>

C = soma do comprimento dos 10 colmos..... dm

Os resultados obtidos em todas as avaliações dos caracteres agronômicos foram submetidos à análise estatística do software SISVAR (FERREIRA, 2008), testados pelo teste Tukey com significância de 5% (P<0,05).

### 3.3.3 Avaliações de Grãos Ardidos

Para avaliar a porcentagem de grãos ardidos retiraram-se duas amostras de 100g, de todas as parcelas de cada tratamento. A avaliação de grãos ardidos foi obtida pela análise visual, separando-se aqueles que apresentavam sinais ou sintomas de contaminação pelos principais fungos causadores de grãos ardidos (Figura 5). Após a retirada dos grãos ardidos, mediu-se a massa destes separadamente, calculando assim o percentual desta massa de grãos frente a massa de 100 gramas.

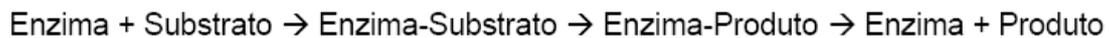
Para análise estatística utilizou-se também o software SISVAR (FERREIRA, 2008), testados pelo teste Tukey com significância de 5% (P<0,05).



**Figura 5:** Caracterização de grãos ardidos.

### 3.3.4 Avaliação Bioquímica da Atividade da Enzima Lipoxigenase

A determinação da atividade enzimática da lipoxigenase foi realizado no Laboratório BIOAGRO no Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal de Viçosa – UFV. Utilizou-se a seguinte reação:



Os grãos de milho foram triturados e misturados junto à solução tampão de fosfato de sódio, com pH 6,5 (Figura 6). Esta mistura foi centrifugada (Figura 7) com: velocidade de 13.000 rpm, temperatura de 4° C, no tempo de 20 minutos. Após isto, obtive-se a enzima, também conhecida como extrato enzimático, que é o sobrenadante. Este sobrenadante foi colocado em eppendorfs de 1,5 mL e foi guardado no freezer à -20° C.



**Figura 6:** Amostras de milho trituradas e a amostra de milho com solução tampão.



**Figura 7 :** Centrífuga e espectrofotômetro, respectivamente.

O substrato é a solução de linoleato de sódio 10 mM, que foi preparado e armazenado no freezer, envolvido com papel alumínio, não podendo ser sacudido e devendo ser mantido no gelo durante toda a utilização. Tanto o substrato quanto a enzima foram mantidos no isopor com gelo, pois as amostras foram mantidas na temperatura de 4° C para preservar a atividade enzimática.

A atividade de lipoxigenases sobre o ácido linoléico foi determinada segundo o método descrito por Axelrod et al. (1981). Nesse método é determinado o aumento da absorvância a 234 nm, resultante da formação de um sistema de duplas ligações conjugadas no hidroperóxido formado.

Para as análises das atividades de lipoxigenases, misturaram-se 1,0 mL do extrato e 4,0 mL da solução-estoque de linoleato de sódio em 1,0 mL de tampão fosfato 50,0 mM, pH

6,5. A velocidade da reação foi determinada de 30 em 30 segundos, a 234 nm, por um período de 120 segundos. Sob as mesmas condições, procedeu-se com o branco, que consistiu da mesma quantidade de substrato e tampão. Experiência anterior do laboratório de Enzimologia, BIOAGRO/UFV, demonstrou que nessas condições de reação a atividade é linear com o tempo.

### **3.3.5 Avaliação de produtividade**

A colheita do ensaio foi realizado em três épocas diferentes, sendo respectivamente: 02 de Abril (30% de umidade), 23 de Abril (25% de umidade) e 14 de Maio (15% de umidade). Foram colhidos manualmente, sendo recolhidas as espigas despilhadas de todas as plantas das parcelas.

As espigas de milho foram debulhadas mecanicamente, e a produtividade foi avaliada, e utilizando uma balança de precisão de cinco casas decimais e extrapolando os valores para área de um hectare encontrando assim, valores transformados em  $\text{Kg.ha}^{-1}$ , foi possível obter a produtividade das amostras.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Doenças foliares

As doenças foliares tiveram discreta incidência na safra de 2008/2009 (Tabela 2). Apenas mancha branca e diplopia foram avaliadas, apesar da condição climática ter sido favorável. A baixa incidência de doenças foliares pode estar relacionada por ter-se usado híbridos altamente resistentes às principais doenças que ocorrem na região. Todos os materiais avaliados são amplamente plantados na região.

**Tabela 2:** Média de doenças foliares, de acordo com a escala de nota de 1 a 9, no híbridos de milho, em experimento com e sem aplicação de fungicida, com 3 doses de potássio e 3 épocas de colheitas, Dow AgroSciences, Indianópolis, MG, 2010.

Híbridos	Doenças foliares		Média
	Diplodia	Mancha Branca	
Híbrido 1	7,44 a	8,61 b	8,03
Híbrido 2	8,00 a	8,39 b	8,19
Híbrido 3	8,00 a	7,44 a	7,72
Híbrido 3Y	7,83 a	7,33 a	7,58
Híbrido 4	8,67 a	7,61 a	8,14
Híbrido 4BT11	8,78 a	7,39 a	8,08
Média	8,12	7,80	7,96

\* Média seguida por letras distintas, maiúscula na linha e minúscula na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey à 0,05 de significância.

Para a doença *Diplodia* os híbridos 4 e 4BT11 foram os que apresentaram maior tolerância, sendo que houve diferença significativa deste para com os demais. Para a doença de *Phaeosphaeria* os melhores híbridos foram o 1 e 2. Observou-se que dentro dos híbridos isogênicos não houve diferença significativa quanto a tolerância a estas doenças.

Foi observado também, que com o tempo de permanência dos híbridos no campo, de acordo com as épocas de análise a ser avaliada, observamos um aumento da incidência e severidade das doenças, conforme Anexo B.

## 4.2 Densidade de colmos

A qualidade dos colmos de milho pode ser afetada por vários fatores que levam ao acamamento, como patógenos, densidade de plantas, estruturas de colmo, desbalanço nutricional e pragas, sendo o ataque por patógenos um dos fatores mais importantes. Sangoi (2005) relata que podridões de colmo estão entre as mais sérias doenças do milho, causando perdas na produção pela redução do enchimento de grãos, morte prematura e tombamento de plantas, sendo considerada doença problema tanto quando ocorre antes da maturidade fisiológica, resultando em morte prematura das plantas e perdas na produção, quanto ocorre após a maturidade, causando o tombamento da planta, resultando em perdas de espigas.

A análise de variância para a densidade de colmo é apresentada na Tabela 3.

**Tabela 3:** Resumo da análise de variância para a densidade de colmo ( $\text{g/dm}^3$ ) obtidos de seis híbridos, Dow AgroSciences, Indianópolis, MG, 2010.

FV	GL	Densidade de colmo ( $\text{g/dm}^3$ )	
		QM	Pr>Fc
Bloco	2	1200,05	0,68
Híbrido	5	11489,61	0,00
Potássio	2	29542,47	0,00
Época	2	7985000,39	0,00
Fungicida	1	18031,56	0,01
Híbrido*Potássio	10	2705,81	0,58
Híbrido*Época	10	57059,36	0,00
Híbrido*Fungicida	5	9950,63	0,01
K2O*Época	4	2951,12	0,45
K2O*Fungicida	2	9098,98	0,06
EP*Fungicida	2	9679,56	0,05
Híbrido*K2O*Época	20	2994,14	0,54
Híbrido*K2O*Fungicida	10	5555,03	0,07
Híbrido*Época*Fungicida	10	2495,90	0,65
K2O*Época*Fungicida	4	1980,28	0,65
Híbrido*K2O*Época*Fungicida	20	2385,86	0,78
Erro	214	3216,67	
CV(%)	18,8		
<b>Média geral</b>	301,8		

\* Teste de Tukey a 0,05 de significância.

Visualmente pode-se observar uma crescente depauperação dos colmos a medida em que permaneciam no campo, segundo indica a Tabela 4. No entanto, precisou-se mensurar e quantificar as perdas na qualidade desse colmo, por isto, mediu-se a densidade onde os valores puderam dar uma idéia de sensibilidade dos colmos depois da redistribuição de suas reservas. Encontrou-se diferença estatística para os item avaliado.

**Tabela 4:** Médias de densidade de colmo ( $\text{g/dm}^3$ ) de híbridos de milho, em experimento com 3 épocas de colheita, sendo: 1= colheita com 30% de umidade, 2= colheita com 25% de umidade e 3= colheita com 15% de umidade. Considerando o experimento com e sem aplicação de fungicida e 3 doses de potássio, Dow AgroSciences, Indianópolis, MG, 2010.

Híbridos	Umidade de colheita									Média
	30%			25%			15%			
Híbrido 1	682,35	b	C	196,89	b	B	94,18	a	A	<b>324,47</b>
Híbrido 2	726,99	c	C	136,66	a	B	68,98	a	A	<b>310,88</b>
Híbrido 3	545,36	a	C	197,58	b	B	102,40	a	A	<b>281,77</b>
Híbrido 3Y	552,55	a	C	211,42	b	B	119,10	a	A	<b>294,36</b>
Híbrido 4	571,95	a	C	219,88	b	B	111,40	a	A	<b>301,06</b>
Híbrido 4BT11	584,39	a	C	219,03	b	B	92,32	a	A	<b>298,58</b>
<b>Média</b>	<b>610,6</b>			<b>196,91</b>			<b>98,05</b>			<b>301,85</b>

\* Média seguida por letras distintas, maiúscula na linha e minúscula na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey à 0,05 de significância.

Verificou-se que, quanto a integridade e vigor de colmo, a primeira e a segunda época de colheita permitiu obter colmos mais densos. Ao passo que se permanecem no campo, sob ação de patógenos e condições ambientais, os colmos sofrem desintegração, onde acontece a maior presença de acamamento e quebramento. Houve diferença significativa dentro dos híbridos da primeira e da segunda época, sendo respectivamente: híbrido 2 e os híbridos: 1, 3, 3Y, 4 e 4BT11. Para a terceira época, não houve diferença significativa entre os híbridos. Observou-se que dentro dos híbridos isogênicos não houve diferença significativa. Portanto para época de colheita, os eventos para controle de lagartas (Y e BT11) avaliados não apresentaram melhora do colmo nos híbridos onde foram introduzidos. E dentro das épocas de colheitas, houve diferença significativa sendo, a primeira colheita, de 30% de umidade foi a que teve melhor resultado, ou seja em altas umidades.

Para as doses de potássio (Tabela 5), verificou-se a crescente influência com o aumento das doses, melhorando a densidade de colmo. O elemento potássio está diretamente

ligado com a proteção das plantas ao ataque dos inseto-pragas, e conseqüentemente a recuperação dos tecidos danificados, sendo esta a explicação do aumento da densidade de colmo. Isto confirma o observado por Huber, 1985 onde observou que o balanço do nível de K induz o espessamento das paredes celulares devido a síntese de lignina, acumulação de ácido amino (arginina), e produção de novos tecidos.

**Tabela 5:** Médias de densidade de colmo ( $\text{g}/\text{dm}^3$ ) de híbridos de milho, em experimento com 3 doses de potássio, com e sem aplicação de fungicida e 3 épocas de colheita, Dow AgroSciences, Indianópolis, MG, 2010.

Híbridos	K <sub>2</sub> O (kg/ha)			Média
	64	120	180	
Híbrido 1	321,00	324,13	328,28	<b>324,50 b</b>
Híbrido 2	295,97	319,02	317,62	<b>310,90 b</b>
Híbrido 3	271,15	276,71	297,44	<b>281,80 a</b>
Híbrido 3Y	266,39	315,05	301,63	<b>294,40 a</b>
Híbrido 4	279,31	320,51	303,33	<b>301,10 a</b>
Híbrido 4BT11	262,81	317,63	315,29	<b>298,60 a</b>
<b>Média</b>	<b>282,77 A</b>	<b>312,18 B</b>	<b>310,60 B</b>	<b>301,85</b>

\* Média seguida por letras distintas, maiúscula na linha e minúscula na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey à 0,05 de significância.

Para as doses de potássio, houve diferença significativa entre as 3 doses. A melhor dose econômica para aumentar a densidade do colmo é a dose de 120 kg/ha. Para a dose de 64 kg/ha, os melhores híbridos foram o 1 e 2, para a dose de 120 kg/ha os melhores híbridos foram: 1, 2, 3Y, 4 e 4BT11. Para o Híbrido 3 e sua versão isogênica (Híbrido 3Y), houve diferença significativa para o nível de 120 kg/ha de K<sub>2</sub>O. Neste caso, diferentemente da tolerância a doenças e época de colheita, ocorreu diferença significativa para o evento Y. Pode-se concluir então que durante o processo de conversão das linhagens deste híbrido, para o evento Y selecionaram-se materiais mais eficientes na extração e/ou uso do potássio. Para a dose de 180 kg/ha, não houve diferença dentro dos híbridos.

O tratamento dos híbridos com fungicida permitiu uma maior proteção contra as doenças, principalmente as de colmo. Segundo a Tabela 6, verificou-se, diferenças significativas entre os tratamentos com e sem fungicida.

**Tabela 6:** Médias de densidade de colmo (g. dm<sup>3</sup>) de híbridos de milho, em experimento com e sem aplicação de fungicida, com 3 doses de potássio e 3 épocas de colheita, Dow AgroSciences, Indianópolis, MG, 2010.

Híbridos	Fungicida						Média
	Com			Sem			
Híbrido 1	349,70	b	B	299,25	b	A	324,47
Híbrido 2	313,75	a	A	308,00	b	A	310,88
Híbrido 3	293,42	a	A	270,13	a	A	281,77
Híbrido 3Y	281,33	a	A	307,39	b	A	294,36
Híbrido 4	301,65	a	A	300,47	b	A	301,06
Híbrido 4BT11	316,05	a	B	281,11	a	A	298,58
<b>Média</b>	<b>309,31</b>			<b>294,39</b>			<b>301,85</b>

\* Média seguida por letras distintas, maiúscula na linha e minúscula na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey à 0,05 de significância.

Com a proteção química, o melhor híbrido foi o 1. Para os híbridos que ficaram sem fungicida, os melhores foram o 1, 2, 3Y e 4. No entanto, ocorreu o contrário para os híbridos 4 e 4BT11, ou seja, menor densidade de colmo com a introdução do evento BT11 no híbrido. Portanto a época de colheita e dose de potássio não influenciam o evento BT11 quanto a densidade de colmo, somente o uso de fungicidas influenciou.

Para a porcentagem de plantas acamadas e quebradas não houve diferença significativa entre os tratamentos, conforme Tabela 7.

**Tabela 7:** Médias das porcentagens de plantas acamadas e quebradas de híbridos de milho, em experimento com e sem aplicação de fungicida, com 3 doses de potássio e 3 épocas de colheita, Dow AgroSciences, Indianópolis, MG, 2010.

Híbridos	Fungicida		Média	
	Com	Sem		
Híbrido 1	0,35	1,26	<b>0,8</b>	<b>a</b>
Híbrido 2	1,32	0,29	<b>0,8</b>	<b>a</b>
Híbrido 3	0,96	2,16	<b>1,6</b>	<b>a</b>
Híbrido 3Y	0,75	0,69	<b>0,7</b>	<b>a</b>
Híbrido 4	1,26	2,26	<b>1,8</b>	<b>a</b>
Híbrido 4BT11	0,49	0,31	<b>0,4</b>	<b>a</b>
<b>Média</b>	<b>0,86 A</b>	<b>1,00 A</b>	<b>1,01</b>	

\* Média seguida por letras distintas, maiúscula na linha e minúscula na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey à 0,05 de significância.

## 4.2 Grãos ardidos

Um dos fatores que geram perdas no rendimento de grãos é a porcentagem de grãos ardidos. Esses grãos são afetados por fungos que consomem as reservas tornando os grãos pouco densos e passíveis de serem perdidos pelo sistema de ventilação das colhedoras. Ocorre também a produção de micotoxinas como Aflotoxina, Fumosinina, Diplodiol e Toxina T-2 entre outras, que depreciem o produto e ocasionam danos à saúde humana e animal (MARASAS et al., 1984).

A Tabela 8 apresenta a análise de variância para porcentagem de grãos ardidos.

**Tabela 8:** Resumo da análise de variância para as porcentagens de grãos ardidos obtidos de seis híbridos, Dow AgroSciences, Indianópolis, MG, 2010.

FV	GL	Grãos ardidos (%)	
		QM	Pr>Fc
Bloco	2	41,37	0,19
Híbrido	5	1301,28	0,00
Potássio	2	315,81	0,00
Época	2	358,36	0,00
Fungicida	1	1406,25	0,00
Híbrido*Potássio	10	63,79	0,00
Híbrido*Época	10	127,86	0,00
Híbrido*Fungicida	5	369,02	0,00
K2O*Época	4	15,29	0,65
K2O*Fungicida	2	53,76	0,11
EP*Fungicida	2	1,87	0,92
Híbrido*K2O*Época	20	19,46	0,73
Híbrido*K2O*Fungicida	10	40,98	0,09
Híbrido*Época*Fungicida	10	10,73	0,93
K2O*Época*Fungicida	4	11,9	0,75
Híbrido*K2O*Época*Fungicida	20	16,07	0,87
Erro	214	24,88	
<b>CV(%)</b>	<b>83,7</b>		
<b>Média geral</b>	<b>5,9</b>		

\* Teste de Tukey à 0,05 de significância.

De acordo com o resultado da análise de variância, verifica-se que há diferença significativa entre híbridos, doses de potássio, épocas de colheita, aplicação de fungicida e na

interação de híbrido com doses de potássio, híbridos com épocas de colheita e híbridos tratados ou não com fungicidas. Observa-se que o coeficiente de variância obtido foi aparentemente alto. Isto ocorreu porque analisou-se a porcentagem de grãos ardidos e quando se analisa porcentagem em testes estatísticos, o coeficiente de variação sempre é alto.

No entanto, segundo Judice et al., (2003), o coeficiente de variação, pode ser considerado alto ou não, dependendo da característica que é observada. Uma vez que faltam trabalhos que mostrem os resultados estatísticos da porcentagem de grãos ardidos, não temos base comparativa para julgar se este valor foi alto ou não. Outra alternativa seria realizar a transformação dos dados. Contudo mesmo esta alternativa é passível de críticas, uma vez que quando se trabalha com dados transformados, alteram-se os dados originais e conseqüentemente as conclusões. Cruz (2009), trabalhando com porcentagem de grãos ardidos, obteve um coeficiente de variação (CV) de 54,86%, e optou por não trabalhar com dados transformado. Igualmente nesta monografia, optou-se por trabalhar com os dados originais.

Na Tabela 9, verificamos os resultados com relação as interações de híbridos com doses de potássio.

**Tabela 9:** Médias de grãos ardidos (%) de híbridos de milho, em experimento com 3 doses de potássio, com e sem aplicação de fungicida e 3 épocas de colheita, Dow AgroSciences, Indianópolis, MG, 2010.

Híbridos	K <sub>2</sub> O (kg/ha)									
	64			120			180			Média
Híbrido 1	4,69	b	A	2,78	a	A	1,53	a	A	
Híbrido 2	11,08	c	A	9,97	c	A	7,83	b	A	9,63
Híbrido 3	12,33	c	B	5,22	b	A	8,25	b	A	8,60
Híbrido 3Y	17,14	d	B	11,08	c	A	9,22	b	A	12,48
Híbrido 4	1,08	a	A	1,36	a	A	0,81	a	A	1,08
Híbrido 4BT11	1,14	a	A	1,03	a	A	0,72	a	A	0,96
<b>Média</b>	<b>7,91</b>			<b>5,24</b>			<b>4,73</b>			<b>5,96</b>

\* Média seguida por letras distintas, maiúscula na linha e minúscula na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey à 0,05 de significância.

A medida que aumenta a dose de potássio, verifica-se uma redução na porcentagem de grãos ardidos. Para a dose de 64 kg/ha o melhor híbrido foi o 4 e 4BT11 (Tabela 10). Já para as doses de 120 kg/ha e 180 kg/ha, os melhores foram os híbridos 1, 4 e 4BT11. Nos híbridos isogênicos 4 e 4BT11, não ocorreram diferenças significativas, ou seja, a introdução do evento não alterou a tolerância a grãos ardidos. Para os híbridos isogênicos 3 e 3Y ocorreu o

contrário. O Híbrido 3Y, que teve a introdução do evento Y, teve significativamente maior porcentagem de grãos ardidos que sua versão convencional, nas doses de 64 e 120 kg/ha de K<sub>2</sub>O. Para a dose de 180 kg/ha, que é considerada uma dose alta de potássio, não se verificaram estas diferenças. Ou seja, o evento Y proporcionou uma redução na eficiência de uso do potássio para controle de grãos ardidos no Híbrido 3.

Para a época de colheita, levando em consideração a aplicação de fungicida e as 3 doses de potássio, pode-se verificar, na Tabela 10, que houve diferença significativa nos resultados. Isso é devido a permanência dos híbridos no campo, ou seja, quanto mais tarde forem colhidos, com baixa umidade, a presença de grãos ardidos são maiores quando comparada com colheita mais cedo, devido ao fato de estarem propícios ao ataque de patógenos e inseto-pragas. Considerando as épocas 1, 2 e 3 sendo: 30% de umidade, 25% de umidade e 15% de umidade, respectivamente.

**Tabela 10:** Médias de grãos ardidos (%) de híbridos de milho com 3 épocas de colheitas, sendo: 1= colheita com 30% de umidade, 2= colheita com 25% de umidade e 3= colheita com 15% de umidade. Considerando o experimento com e sem aplicação de fungicida e 3 doses de potássio, Dow AgroSciences, Indianópolis, MG, 2010.

Híbridos	Umidades de colheita									Média
	30%			25%			15%			
Híbrido 1	2,00	a	A	4,11	a	A	2,89	a	A	3,00
Híbrido 2	4,56	b	A	8,61	b	B	15,72	c	C	9,63
Híbrido 3	4,94	b	A	10,97	b	B	9,89	b	B	8,60
Híbrido 3Y	10,28	c	A	16,11	c	B	11,06	b	A	12,48
Híbrido 4	0,89	a	A	2,33	a	A	0,03	a	A	1,08
Híbrido 4BT11	0,69	a	A	1,86	a	A	0,33	a	A	0,96
<b>Média</b>	<b>3,89</b>			<b>7,33</b>			<b>6,65</b>			<b>5,96</b>

\* Média seguida por letras distintas, maiúscula na linha e minúscula na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey à 0,05 de significância.

Dentro das épocas houve diferença significativa dos resultados. Para todas as épocas os melhores híbridos foram 1, 4 e 4BT11. Quanto aos híbridos geneticamente modificados, observou-se o mesmo padrão para doses de potássio.

A Tabela 11 apresenta os resultados de grãos ardidos com e sem a aplicação de fungicidas. Segundo estes resultados, essa proteção permitiu uma redução significativa na porcentagem de grãos ardidos.

**Tabela 11:** Médias de grãos ardidos (%) de híbridos de milho em experimento com e sem aplicação de fungicida, com 3 doses de potássio e 3 épocas de colheitas, Dow AgroSciences, Indianópolis, MG, 2010.

Híbridos	Fungicida						Média
	Com			Sem			
Híbrido 1	2,74	a	A	3,26	a	A	3,00
Híbrido 2	6,04	b	A	13,22	b	B	9,63
Híbrido 3	6,43	b	A	10,78	b	B	8,60
Híbrido 3Y	5,96	b	A	19,00	c	B	12,48
Híbrido 4	1,04	a	A	1,13	a	A	1,08
Híbrido 4BT11	1,06	a	A	0,87	a	A	0,96
<b>Média</b>	<b>3,88</b>			<b>8,04</b>			<b>5,96</b>

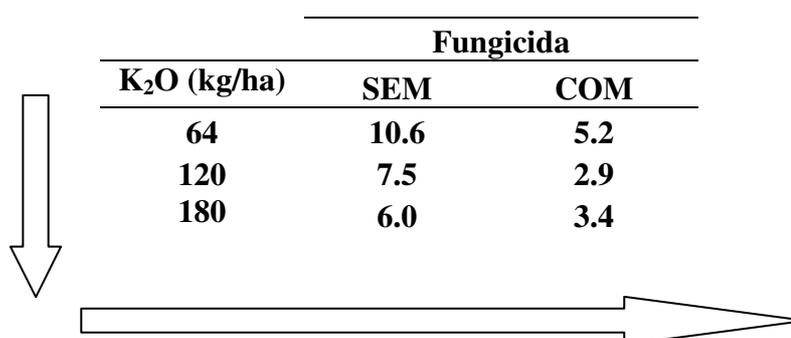
\* Média seguida por letras distintas, maiúscula na linha e minúscula na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey à 0,05 de significância.

Verificou-se que o melhor resultado para ambos os tratamentos, foram os híbridos foram 1, 4 e 4BT11. Para o híbrido isogênico 3 e 3Y, houve diferença significativa para o tratamento sem fungicida, aumentando em 76% a porcentagem de grãos ardidos, sem aplicação de fungicidas, para o evento Y.

Portanto separadamente, o uso de potássio, a época de colheita e a aplicação de fungicidas reduzem a porcentagem de grãos ardidos. Contudo não se observaram diferenças significativas nas interações. Apesar do experimento não ter tido o poder de detectar diferenças significativas nas interações, quando se fazem os quadros das interações (Tabelas 12, 13 e 14), verificam-se resultados interessantes.

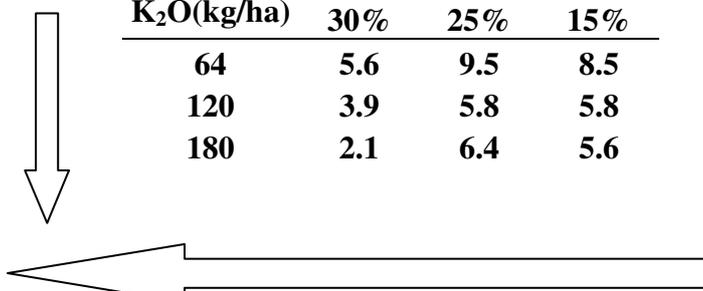
**Tabela 12:** Resultados da interação entre níveis de potássio e aplicação de fungicidas na porcentagem de grãos ardidos, considerando 3 épocas de colheita. Dow AgroSciences, Indianópolis, MG, 2010.

K <sub>2</sub> O (kg/ha)	Fungicida	
	SEM	COM
64	10.6	5.2
120	7.5	2.9
180	6.0	3.4



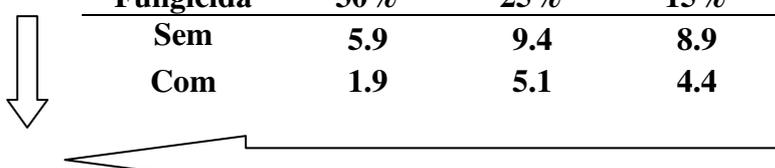
**Tabela 13:** Resultados da interação entre níveis de potássio e épocas de colheita na porcentagem de grãos ardidos, considerando-se aplicação ou não de fungicidas. Dow AgroSciences, Indianópolis, MG, 2010.

<b>K<sub>2</sub>O(kg/ha)</b>	<b>Umidades</b>		
	<b>30%</b>	<b>25%</b>	<b>15%</b>
<b>64</b>	<b>5.6</b>	<b>9.5</b>	<b>8.5</b>
<b>120</b>	<b>3.9</b>	<b>5.8</b>	<b>5.8</b>
<b>180</b>	<b>2.1</b>	<b>6.4</b>	<b>5.6</b>



**Tabela 14:** Resultados da interação entre épocas de colheita e aplicação de fungicidas na porcentagem de grãos ardidos, considerando-se 3 níveis de potássio. Dow AgroSciences, Indianópolis, MG, 2010.

<b>Fungicida</b>	<b>Umidade</b>		
	<b>30%</b>	<b>25%</b>	<b>15%</b>
<b>Sem</b>	<b>5.9</b>	<b>9.4</b>	<b>8.9</b>
<b>Com</b>	<b>1.9</b>	<b>5.1</b>	<b>4.4</b>



Observa-se que a aplicação conjunta de potássio com fungicida, potássio e época de colheita e época de colheita e fungicida tem a tendência de reduzir drasticamente a porcentagem de grãos ardidos.

### 4.3 Atividade da enzima lipoxigenase

A resistência de genótipos de milho a podridões de grãos e espigas está relacionada ao teor de ácidos graxos do tipo linoléico (ZERINGUE et al., 1996). Esse é o principal ácido graxo insaturado, compreendendo cerca de 62% dos óleos vegetais do milho, sendo também essencial à nutrição humana e a alguns animais, dada a incapacidade de síntese dos mesmos pelo organismo (PAES, 2008).

Isso confirma o que foi mencionado por Kim et al. (2002) e Wright et al. (2000), que quando tecidos de plantas são danificados por patógenos ou mecanicamente, ocorre uma degradação sequencial de lipídeos que são produtos primários da reação das lipoxigenases. Essas enzimas se ativam e oxidam os ácidos graxos linolêicos, produzindo uma determinada concentração de aldeídos e compostos voláteis que inibem a formação e o desenvolvimento de fungos em grãos.

Segundo os resultados apresentados nas Tabelas 15 e 16, não houve diferença significativa quanto as doses de potássio, sendo que foi realizado esta avaliação apenas para a terceira época de colheita, ou seja, colheita com 15% de umidade, devido a condições laboratoriais.

**Tabela 15:** Médias de atividade de lipoxigenase ( $M.s^{-1}$ ) de híbridos de milho em experimento com 3 doses de potássio, com e sem aplicação de fungicida, Dow AgroSciences, Indianópolis, MG, 2010.

Híbridos	K <sub>2</sub> O (kg/ha)			Média	
	64	120	180		
Híbrido 1	1,33	-0,44	2,07	0,99	<b>a</b>
Híbrido 2	0,74	-0,37	0,30	0,22	<b>a</b>
Híbrido 3	3,19	2,89	1,33	2,47	<b>a</b>
Híbrido 3Y	2,00	-0,44	0,52	0,69	<b>a</b>
Híbrido 4	0,37	0,52	1,56	0,82	<b>a</b>
Híbrido 4BT11	0,07	1,85	3,19	1,70	<b>a</b>
<b>Média</b>	<b>1,28 A</b>	<b>0,67 A</b>	<b>1,49 A</b>	<b>1,15</b>	

\* Média seguida por letras distintas, maiúscula na linha e minúscula na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey à 0,05 de significância.

**Tabela 16:** Relação das médias de atividade de lipoxigenase ( $M.s^{-1}$ ) com percentagem de grãos ardidos em diferentes híbridos de milho em experimento com 3 doses de potássio, com e sem aplicação de fungicida, Dow AgroSciences, Indianópolis, MG, 2010.

Híbridos	K <sub>2</sub> O (kg/ha)						Média
	64	120	180	64	120	180	
Híbrido 1	1,33	4,69	-0,44	2,78	2,07	1,53	0,99
Híbrido 2	0,74	11,08	-0,37	9,97	0,30	7,83	0,22
Híbrido 3	3,19	12,33	2,89	5,22	1,33	8,25	2,47
Híbrido 3Y	2,00	17,14	-0,44	11,08	0,52	9,22	0,69
Híbrido 4	0,37	1,08	0,52	1,36	1,56	0,81	0,82
Híbrido 4BT11	0,07	1,14	1,85	1,03	3,19	0,72	1,70

\* Média seguida por letras distintas, maiúscula na linha e minúscula na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey à 0,05 de significância.

Não houve diferença significativa entre as doses e, muito menos entre os híbridos, mas foi possível constatar uma tendência de maior atividade da enzima para os híbridos pertencentes ao grupo considerado tolerante aos grãos ardidos, ou seja, os híbridos 1 e 4BT11, quando comparado com o grupo considerado susceptível aos fungos (Tabela 16). Ficou mais evidente a maior atividade da enzima para o híbrido 4BT11. O U.S. Department of Agriculture realizou vários experimentos para comprovar a resistência de algumas variedades de milho, devido aos diferentes níveis de ácidos graxos do óleo, principalmente ácido linoleico associados a presença da enzima lipoxigenase (ZERINGUE, 1996). Este mesmo autor, constatou diferenças nas composições dos ácidos graxos extraídos através de vários genótipos de milho estudados, podendo explicar a susceptibilidade e resistência entre os genótipos com relação a infecção fúngica. O mecanismo funcionaria baseado nas produções de Hexanal e Octanal (aldeídos voláteis) pela liperoxidação do ácido linoléico promovido pela reação da enzima lipoxigenase. Esta enzima oxida o ácido linoléico e o resultado será a produção de aldeídos voláteis. Nestas investigações foi demonstrada a relação entre os níveis de aldeídos fungitóxicos na oxidação do ácido linoléico em diversos genótipos de milho, bem como a sua susceptibilidade e resistência ao ataque fúngico. Estes aldeídos são tóxicos para os fungos, eliminando as hifas em desenvolvimento.

Portanto, podemos inferir que híbridos de milho com alto teor de ácido linoleico como ácido graxo principal e a presença de alta atividade da enzima lipoxigenase, indicam que estes genótipos possuem maior capacidade de resistirem ao ataque fúngico no final de ciclo da cultura, com conseqüente menor produção de grãos ardidos na colheita.

A Tabela 17, permite concluir que o híbrido 4BT11, que obteve maior atividade da enzima lipoxigenase é o híbrido mais tolerante a presença de grãos ardidos. Quando realiza-se a proteção química dos híbridos, confirma o que foi mencionado por Zeringue (1996), onde altos teores da atividade da enzima estão relacionados com a tolerância dos híbridos ao complexo de fungos causadores de grãos ardidos.

**Tabela 17:** Médias de atividade de lipoxigenase ( $M.s^{-1}$ ) de híbridos de milho em experimento com e sem aplicação de fungicida e com 3 doses de potássio, Dow AgroSciences, Indianópolis, MG, 2010.

Híbridos	Fungicida						Média
	Com			Sem			
Híbrido 1	2,27	a	B	-0,3	a	A	0,99
Híbrido 2	0,15	a	B	0,3	a	A	0,22
Híbrido 3	3,36	a	B	1,58	a	A	2,47

Continua...

Conclusão...							
Híbridos	Fungicida						Média
	Com			Sem			
Híbrido 3Y	1,28	a	B	0,1	a	A	0,69
Híbrido 4	1,63	a	B	0	a	A	0,82
Híbrido 4BT11	2,67	a	B	0,74	a	A	1,7
<b>Média</b>	<b>1,89</b>			<b>0,4</b>			<b>1,15</b>

\* Média seguida por letras distintas, maiúscula na linha e minúscula na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey à 0,05 de significância.

O que destoa desta discussão são os resultados do Híbrido 3, que apresentou a maior atividade de lipoxigenase mas, os maiores teores de grãos ardidos. Isto mostra que estudos mais profundos e detalhados devem ser realizados para se determinar a real influencia das lipoxigenases nos grãos ardidos.

#### 4.5 Produtividade

A produtividade média encontrada para os tratamentos foi de 9.493 Kg.ha<sup>-1</sup>. Esta diferença comprovou que realmente foram escolhidos os melhores híbridos da região, para se conduzir este estudo.

Na análise encontrou diferença significativa entre os tratamentos com e sem aplicação de fungicida, na interação de híbridos com potássio e híbridos com aplicação de fungicida. Os híbridos que foram tratados com fungicida obtiveram uma produtividade de 9.767 Kg.ha<sup>-1</sup> e os, que não foram protegidos, produziram, em media, 9.218 Kg.ha<sup>-1</sup>, sendo que há uma redução de 6% na produtividade quando não se realiza o tratamento químico.

A Tabela 18, mostra que ocorreram diferenças significativas dentro da maioria dos híbridos para a aplicação de fungicida. Ou seja, para o híbrido 1, por exemplo, sem a proteção com fungicida a perda na produtividade seria de 1.641 Kg.ha<sup>-1</sup>, ou seja, aproximadamente 15%. Portanto, observa-se que sem a proteção química há uma redução na produtividade considerável da maioria dos híbridos.

**Tabela 18:** Médias da produtividade (Kg.ha<sup>-1</sup>) de híbridos de milho em experimento com e sem aplicação de fungicida, com 3 doses de adubação potássica e 3 épocas de colheita. Dow AgroSciences, Indianópolis, MG, 2010.

Híbridos	Fungicida						Média
	Com			Sem			
Híbrido 1	10.967	d	B	9.326	b	A	<b>10.147</b>
Híbrido 2	6.491	a	B	6.637	a	A	<b>6.564</b>
Híbrido 3	10.379	c	B	9.821	b	A	<b>10.100</b>
Híbrido 3Y	10.392	c	B	9.728	b	A	<b>10.060</b>
Híbrido 4	9.452	b	B	9.627	b	A	<b>9.540</b>
Híbrido 4BT11	10.921	d	B	10.172	b	A	<b>10.547</b>
<b>Média</b>	<b>9.767</b>			<b>9.219</b>			<b>9.493</b>

\* Média seguida por letras distintas, maiúscula na linha e minúscula na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey à 0,05 de significância.

Os melhores resultados para o tratamento com fungicida foram os híbridos 1 e 4BT11. Já para o tratamento sem fungicida os melhores foram: 1, 3, 3Y, 4 e 4BT11. Para o híbrido isogênico, 3 e 3Y não houve diferença significativa dentro dos híbridos, mas sim entre os tratamentos fúngicos. Com a aplicação de fungicida eles foram melhores do que quando não há esta proteção. Já para o híbrido isogênico 4 e 4BT11, com a aplicação de fungicida eles se diferiram entre si, sendo que o 4BT11 foi melhor. Sem a proteção química, eles não se diferiram.

A produtividade também foi influenciada pelas doses de potássio. Segundo Tabela 19, a medida que aumenta-se a dose de potássio, foram mais produtivos.

**Tabela 19:** Médias da produtividade (Kg.ha<sup>-1</sup>) de híbridos de milho em experimento com 3 doses de adubação potássica, com e sem aplicação de fungicida e 3 épocas de colheita. Dow AgroSciences, Indianópolis, MG, 2010.

Híbridos	K <sub>2</sub> O (kg/ha)									Média
	64			120			180			
Híbrido 1	9.798	b	A	10.215	b	A	10.428	c	A	<b>10.147</b>
Híbrido 2	6.889	a	A	6.485	a	A	6.319	a	A	<b>6.564</b>
Híbrido 3	9.799	b	A	10.060	b	A	10.442	c	A	<b>10.100</b>
Híbrido 3Y	9.388	b	A	10.067	b	A	10.726	c	A	<b>10.060</b>
Híbrido 4	9.783	b	A	10.065	b	A	8.771	b	A	<b>9.539</b>
Híbrido 4BT11	10.268	b	A	11.001	b	A	10.369	c	A	<b>10.546</b>
<b>Média</b>	<b>9.321</b>			<b>9.649</b>			<b>9.509</b>			<b>9.493</b>

\* Média seguida por letras distintas, maiúscula na linha e minúscula na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey à 0,05 de significância.

Observou-se que a melhor dose é a  $120 \text{ Kg.ha}^{-1}$ , sendo que entre as doses de  $120 \text{ Kg.ha}^{-1}$  e  $180 \text{ Kg.ha}^{-1}$  não houve diferença significativa. Na melhor dose, os melhores híbridos foram: 1, 3, 3Y, 4 e 4BT11. Sendo que para o híbrido isogênico 3 e 3Y, não houve diferença significativa entre eles, mas para os isogênicos 4 e 4BT11, há diferença na maior dose. Para o híbrido 3, o evento Y não aumentou a produtividade. Já para o híbrido 4, o evento BT11 aumentou significativamente a produtividade em 11% .

Segundo Ribeiro et al. (1999), o nível de nitrogênio, fósforo e potássio (NPK) recomendado para produtividades acima de 8 mil kg/ha é de 10-20 kg/ha de N no plantio, 120 kg/ha, 100 kg/ha, ou 70 kg/ha de  $\text{P}_2\text{O}_5$  quando a disponibilidade de fósforo (P) for baixa, média ou boa respectivamente. E para o nutriente potássio (K) as dosagens são de 90 kg/ha, 80 kg/ha e 60 kg/ha de  $\text{K}_2\text{O}$  quando a disponibilidade de (K) for baixa, média e boa respectivamente.

Dados médios de experimentos conduzidos por Coelho et al. (2008) dão uma idéia da extração de nutrientes pelo milho, e mostram que a extração de nitrogênio, fósforo, potássio, cálcio e magnésio aumentam linearmente com o aumento na produtividade, e que a maior exigência da cultura refere-se a nitrogênio e potássio, seguindo-se cálcio, magnésio e fósforo.

Segundo Ribeiro et al. (1999) a adubação nitrogenada de cobertura para altas produtividades, acima de 8 mil kg /ha é recomendado 140 kg/ha de (N) e o (K) é dividido em duas aplicações sendo a metade no plantio e a outra metade em cobertura quando os solos são arenosos ou quando a recomendação exceder os 80 kg/ha de  $\text{K}_2\text{O}$  (COELHO & FRANÇA). Nota-se que as médias estudadas neste trabalho se aproximam significativamente do recomendado para se obter altas produtividades.

No presente estudo não se variou o quantidade de N aplicada, sendo fixa em  $120 \text{ Kg/ha}$ . Assim, para as doses de Potássio de 64, 120 e  $180 \text{ Kg/ha}$ , a relação N/K foi de 0,53, 1 e 1,5 respectivamente. Pelo discutido anteriormente, as melhores doses de Potássio para manejo de grãos ardidos foram as de 120 e  $180 \text{ Kg/ha}$ , ou seja, as com relação N/K acima de 1. Isto pode ser um indicativo de que no mínimo, mantendo-se a aplicação de Potássio equilibrada com a de Nitrogênio possa ser um fácil manejo para grãos ardidos. Desta maneira, um futuro trabalho, mais aprofundado sobre este tema seria muito útil.

## 5 CONCLUSÕES

- Há diferença significativa entre híbridos, ou seja, do material genético, na incidência de grãos ardidos.
- Quanto maior o nível de potássio utilizado, menor a incidência de grãos ardidos.
- Quanto mais tardia a época de colheita, maior a incidência de grãos ardidos.
- O uso de fungicidas reduz significativamente a incidência de grãos ardidos.
- Nenhum evento Bt estudado, Yieldgard ou Agrisure reduz a incidência de grãos ardidos.
- Baseado nestas observações, pode-se propor a seguinte estratégia para redução de grãos ardidos: usar adubação potássica no plantio e em cobertura até o nível de 120 Kg.ha<sup>-1</sup>, usar fungicidas e não atrasar a colheita ao ponto de chegar a 15% de umidade dos grãos.
- Maiores doses de potássio, com proteção química e uma época de colheita com maior umidade, afetam positivamente a densidade de colmo.
- O uso de fungicida permite uma melhor expressão da atividade da enzima lipoxigenase e da produtividade.

## REFERÊNCIAS

- AFUAKWA, J.J.; CROOKSTON, R.K.; JONES, R.J. Effect of temperature and sucrose availability on Kernel black layer development in maize. **Crop Science**, Madison, v.24, n.2, p. 285-288, 1984.
- ALVES, W.M.; FARONI, L.R.D.; QUEIROZ, D.M. di, CORRÊIA, P.C.; GALVÃO, J.C.C. Qualidade de grãos de milho em função da umidade de colheita e da temperatura de secagem. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.5, n.3, p.469-474, 2001.
- ALLISON, J.C.; WATSON, D.J. The production and distribution of dry matter in maize after flowering. **Annals of Botany**, Londres, v.30, p.365-381, 1966.
- ANDRADE, A.C.; FONSECA, D.M.; QUEIROZ, D.S.; SALGADO, L.T.; CECAN, P.R. Adubação Nitrogenada e Potássica em Capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum. cv. napier). **Ciências e Agrotecnologia**, Lavras, Ed. Especial, p.1643-1651, Dezembro 2003.
- ANDERSON, J.M.; SILATRO, S.R.; KLAUER, S.F.; FRANCESCHI, V.R. Jasmonic acid dependent increases in the level of vegetative storage proteins in soybean. **Plant Science**, Limerick, v. 62, p. 45-52, 1989.
- ATHIÉ, I.; CASTRO, M.F.P.M.; GOMES, R.A.R.; VALENTINI, S.R.T. **Conservação de Grãos**. Campinas: Fundação Cargill, 1998. 236 p.
- AXELROD, B.; CHEESBROUGH, T.M.; LAASKO, S. Lipoxygenases from soybeans. **Methods in Enzymology**, New York, v. 71, p. 441-451, 1981.
- BELARMINO, M.C.J.; PINTO, J.C.; ROCHA, G.P.; FERREIRA NETO, A.E.; MORAES, A.R. de. Altura de perfilhos e rendimento de matéria seca de capim-tânzania em função de diferentes doses de superfosfato simples e superfosfato de amônio. **Ciências e Agrotecnologia**, Lavras, v.27, n.4, p.879-885, Julho/Agosto 2003.
- BELL, E.; MULLET, J.E. Characterization of an arabidopsis lipoxygenase gene responsive to methyl jasmonate and wounding. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 103, p. 1133-1137, 1993.
- BENSCH, M.J. *Stenocarpella maydis* (Berk.) Sutton colonization of maize ears. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 143, p. 597-599. 1995.
- BOHLAND, C.; BALKENHOHL, T.; LOERS G.; FEUSSNER I.; GRAMBOW, H.J. Differential induction of lipoxygenases isoforms in wheat upon treatment with rust fungus elicitor, chitin oligosaccharides, chitosan, and methyl jasmonate. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 114, p. 679-685, 1997.
- BRANDÃO, A.M. **Manejo de cercosporiose (*Cercospora zae-maydis* Tehon e Daniels) e da ferrugem comum do milho (*Puccinia sorghi* Schw) pelo uso de resistência genética, fungicidas e épocas de aplicação**. 2002. 169f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2002.

BUNKER, T.W.; KOETJE, D.S.; STEPHENSON, L.C.; CREELMAN, R.A.; MULLET, J.E.; GRIMES, H.D. Sink limitation induces the expression of multiple soybean lipoxygenase mRNAs while the endogenous jasmonic acid level remains low. **Plant Cell**, Rockville, v. 7, p. 1319-1331, 1995.

CALDASSO, L.H., ROMBALDI, C.V. ; ELIAS, M.C. Ácidos orgânicos e hermeticidade no armazenamento de milho em pequena escala. In: ENCONTRO NACIONAL DE MICOTOXINAS, 9.; SIMPÓSIO EM ARMAZENAGEM QUALITATIVA DE GRÃOS DO MERCOSUL, 1998, Florianópolis. **Resumos...** Florianópolis: UFSC, 1998. p. 153.

CHRISTENSEN, C.M.; MERONUCK, R.A. **Quality Maintenance in Storage Grains & Seeds**. Minneapolis: University of Minnesota, 1986. 138 p.

COELHO, A.M. Manejo da Adubação Nitrogenada na Cultura do Milho, **Circular Técnica 96**, Sete Lagoas, 10 p., Dezembro 2007.

COLHOUM, J. Effects of environmental factors on plants diseases. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.11, p. 343-364, 1973.

CONAB: Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da Safra brasileira de grãos 2008/2009**: quarto levantamento. Brasília. janeiro 2008. Disponível em:<[http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/4\\_levantamento\\_jan2009.pdf](http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/4_levantamento_jan2009.pdf)> Acesso em: 05 fev. 2009

CONAB: Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da Safra brasileira: grãos: décimo primeiro levantamento**. Brasília. agosto 2008. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/11\\_levantamento\\_ago2008.pdf](http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/11_levantamento_ago2008.pdf)> Acesso em: 05 fev. 2009

CONAB: Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da Safra brasileira: grãos: décimo segundo levantamento**. Brasília. Setembro 2010. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/7e05515f8222082610088f5a2376c6af..pdf> Acesso em: 24 out. 2010.

CROFT, K.P.C.; JÜNTTER, F.; SLUSARENKO, A.J. Volatiles products of the lipoxygenase pathway evolved from *Phaseolus vulgaris* (L) leaves inoculated with *Pseudomonas syringae* pv *phaseolicola*. **Plant Physiology**, Minneapolis, v.101, p. 13-24, 1993.

CRUZ, J.C.; MONTEIRO, J. de A.; SANTANA, D.P.; GARCIA, J.C.; BAHIA, F.G.F.T.de C.; SANS, L.M.A.; PEREIRA FILHO, I.A. **Recomendações Técnicas para o Cultivo do Milho**. Sete Lagoas: EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1996, 200p.

DAROS, E.; RONZELLI JÚNIOR, P.; COSTA, J.A.; KOEHLER, H.S. Estresses por sombreamento e desfolhamento no rendimento e seus componentes da variedade de feijão “carioca”. **Scientia Agrária**, Curitiba, v.1, n.1-2, p.55-61, 2000.

DENTI, E.A.; REIS, E.M. Efeito da rotação de culturas, da monocultura e da densidade de plantas na incidência das podridões da base do colmo e no rendimento de grãos de milho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v.36, n.23, p.635-639, 2001.

DENTI, E.A.; REIS, E.M. Levantamento de fungos associados às podridões do colmo e quantificação de danos em lavouras de milho do Planalto Médio Gaúcho e Campos Gerais do Paraná. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v.28, p.585-590. 2003.

EMBRAPA: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária de Milho e Sorgo. **Sistema de Produção 2**: cultura do milho. Brasília. setembro 2007. Disponível em: <[http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho\\_5\\_ed/cultivares.htm](http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho_5_ed/cultivares.htm)> Acesso em: 05 dez. 2008.

FANCELLI, A.L. Fisiologia da produção e aspectos básicos de manejo para altos rendimentos. In: SANDINI, I.; FANCELLI, A.L. (Ed). **Milho**: estratégias de manejo para a região sul. Guarapuava: Fundação de Pesquisa Agropecuária, 2000, p.103-116.

FANCELLI, A.L. Influência da adubação na ocorrência de doenças de plantas de milho. **Nutrição e Adubação**, Piracicaba: ESALQ/ USP, 2008, p. 1-35.

FANCELLI, A.L. **Influência do desfolhamento no desempenho de plantas e de sementes de milho (*Zea mays* L.)**. 1988. 172 f. Tese (Doutorado em Agronomia). ESALQ/USP, Piracicaba, 1988.

FANCELLI, A.L.; DOURADO NETO, D. **Milho**: tecnologia e produtividade. Piracicaba: ESALQ/LPV, 2002. 259 p.

FANCELLI, A.L.; DOURADO NETO, D. **Produção de Milho**. 2ª edição. Piracicaba: ESALQ/LPV, 2004. 360 p.

FARMER, E. E.; RYAN, C. A. Interplant communication: airborne methyl jasmonate induces synthesis of proteinase inhibitors in plant leaves. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, DC, v. 87, p. 7713-7716, 1990

FARMER, E.E.; RYAN, C.A. Octadecanoid precursors of jasmonic acid activate the synthesis of wounding inducible proteinase inhibitors. **Plant Cell**, Rockville, v. 4, p.129-134, 1992.

FERNANDES, F.T. ; OLIVEIRA, E. **Principais doenças na cultura do milho**, Sete Lagoas: Embrapa-CNPMS, 1997. 80 p. (Embrapa-CNPMS. Circular Técnica, 26).

FERNANDES, F.T.; OLIVEIRA, E. **Principais doenças da Cultura do Milho**, Sete Lagoas: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo, (Circular Técnica 26), Sete Lagoas, 8 p., 2000.

FERREIRA, D.F. **SISVAR** - Sistema de Análise de Variância: versão 4.2. Lavras: UFLA/DEX, 2008. Software.

FORNASIERI FILHO, D. **Manual da Cultura do Milho**. Jaboticabal: FUNEP, 2007, 574 p.

FIDANTSEF, A.L.; BOSTOCK, R.M. Characterization of potato tuber lipoxygenase cDNAs and lipoxygenase expression in potato tubers and leaves. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.102, p.257-271, 1998.

GOLDSWORTHY G.J.; COUPLAND A.J. The Influence of the Corpora Cardiaca and Substrate Availability on Flight Speed and Wing Beat Frequency in *Locusta*. **Journal of Comparative Physiology**, Berlin, v.89, p.359-368, 1974.

GONÇALVES, R.C. **Podridões de Colmo em milho**, 2000.

<<http://órbita.starnedi.com/fitopatologia/podridão.htm>> Acesso em: 20 fev. 2009

HEITZ, T.; BERGEY, D.R.; RYAN, C.A. A gene encoding a chloroplast-targeted lipoxygenase in tomato leaves is transiently induced by wounding, systemin, and methyl jasmonate. **Plant Physiology**, Minneapolis, DC, v.114, p.1085-1093, 1997.

HILDEBRAND, D.F. Lipoxygenases. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.76, p.249-253, 1989.

HUBER, D.M. Introduction. In: ENGELHARD, A.W. (Ed.) **Management of disease with macro and microelements**. St. Paul, APS Press, 1990. p. 1-8.

HUBER, D.M. The role of mineral nutrition in defense. In: HORSFALL ; COWLING, E.B. **Plant Pathology**; an advanced treatise. New York: Academic Press, v. 5, 1980, p. 381-406.

HUBER, D.M.; ARNY, D.C. Interaction of potassium with plant disease. In: MUNSON, R.D. (Org.). **Potassium in Agriculture**, Madison: American Society of Agronomy, 1985. p. 467-488.

JOHANN, H. *Diplodia macrospora* on corn in Brazil. **Plant Disease Reporter**, Beltsville, v.19, p.9-10. 1935.

JUDICE, M. G.; MUNIZ, J. A.; AQUINO, L. H. Metodologias para classificação do coeficiente de variação na experimentação com animais. In: SIMPÓSIO DE ESTATÍSTICA APLICADA À EXPERIMENTAÇÃO AGRONÔMICA (SEAGRO), 10.; REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA (RBRAS), 48., 2003, Lavras. **Resumos Expandidos...** Lavras: UFLA, 2003. v. 1. CD-ROM.

KIM, E.S.; KIM H.; PARK, R.D., LEE, Y, HAN, O. Dual positional specificity of wound responsive lipoxygenase from maize seedlings. **Journal Plant Physiology**, Stuttgart, v.159, n.11, p.1263-1265, 2002

KLUTHOCOUSKI, J.; STONE, L.F. **Efeitos Nocivos do manejo inadequado da adubação no crescimento radicular das culturas anuais com ênfase no potássio**. (Embrapa Documentos 158), Santo Antônio do Goiás: EMBRAPA Arroz e Feijão, 2003.

LUCA FILHO, O.A. Teste de sanidade de sementes de milho. In: SOAVE, J. ;WETZEL, M.M.V.S. (Ed.) **Patologia de sementes**. Campinas: Fundação Cargill. 1987. p.430-440.

MACK, A.J.; PETERMAN, T.K.; SIEDOW, J.N. Lipoxygenase isoenzymes in higher plants: biochemical properties and physiological role. **Current Topics in Biological and Medical Research**, New York v.13, p.127-54, 1987.

MAGALHÃES, P.C.; DURÃO, F.O.M.; PAIXA, E. **Fisiologia da Planta de Milho**. 1995, 23 p. (Circular Técnica 20).

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. New York: Academic Press, 1986. 674 p.

MELAN, M.A.; DONG, X.; ENDARA, M.E.; DAVIS, K.R.; AUSUBEL, F.M.; PETTERMAN, T.K. An *Arabidopsis thaliana* lipoxygenase gene can be induced by pathogens, abscisic acid, and methyl jasmonate. **Plant Physiology**, Minneapolis, v.101, p.441-450, 1993.

MENDES, M.C. **Reação de Híbridos de Milho e Aspectos Bioquímicos do Grão Associados Com a Resistência à Fungos Causadores de Podridões de Grãos**. 2009. 109f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

MENEGAZZO, R. Micotoxinas em milho para rações da região sul do Brasil (1992-1997). In: ENCONTRO NACIONAL DE MICOTOXINAS, 9.; SIMPÓSIO EM ARMAZENAGEM QUALITATIVA DE GRÃOS DO MERCOSUL, 1998, Florianópolis. **Livro de resumos**. Florianópolis: UFSC, 1998. p. 22.

MOLIN, R. ; VALENTINI, M.L. **Simpósio sobre micotoxinas em grãos**. Santo Amaro: Fundação Cargill, Fundação ABC, 1999. 208 p.

NAZARENO, N.R.X. Avaliação de perdas por podridões do colmo de milho (*Zea mays* L.) no estado do Paraná. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v.14, p.82-84. 1989.

PALMER, A.F.E.; HEICHEL, G.H.; MUSGRAVE, R.B. Patterns of translocation, respiratory loss, and redistribution of <sup>14</sup>C in maize labeled after flowering. **Crop Science**, Madison, v.13, p.371-6, 1973.

PARÉ, P.W.; TUMLINSON, J.H. De novo biosynthesis of volatiles inducible by insect herbivory in cotton plants. **Plant Physiology**, Minneapolis, v.114, p.1161-1167, 1997.

PARK, T.K.; HOLLAND, M.A.; LASKEY, J.G.; POLACCO, J.C. Germination- associated lipoxygenases transcripts persist in maturing soybean plants and are induced by jasmonate. **Plant Science**, Limerick, v.96, p.109-117, 1994.

PATERNIANI, E. Importância do milho na agroindústria. In: OSUNA, J.A; MORO, J.R. (Ed). **Produção e Melhoramento do Milho**. Jaboticabal: Funep, p.1-11, 1995.

PENNYPACKER, B.W. The role of mineral nutrition in the control of *Verticillium wil*. In: ENGELHARD, A.W. (Ed.) **Management of disease with macro and microelements**. St. Paul: APS Press, 1990. p. 33-51.

PEREIRA, O.A.P. Doenças do milho (*Zea mays* L.). In KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; RESENDE, J.A.M. (Ed). **Manual de Fitopatologia**. Volume 2: Doenças de plantas cultivadas. 3ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. p.538-555.

PINTHUS, M.J. Lodging in wheat, barley and oats: the phenomenon, its causer, and preventive measures. **Advances in Agronomy**, New York, v.25, n.1, p.208-263, 1993.

PINTO, N.F.J.A. Patologia de grãos de milho pós-colheita. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v.26, n.1, p.104, 2000.

PINTO, N.F.J.A. Incidência de grãos ardidos em cultivares de milho precoce. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v.27, n.4, p.433-436, 2001.

PINTO, N.F.J.A. Incidência de grãos ardidos em diferentes tipos de milho. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v.29, n.1, p.67, 2003.

RAM, A.; RAM, C.; ROCHA, H.M. A new disease of maize in Bahia – Brazil with special reference to its causal organism, **Turrialba**, San Jose, v.23, p.227-230, 1973.

RAUN, W.R.; JOHNSON, G.V. Improving Nitrogen use Efficiency for Cereal Production. **Agronomy Journal**, Madison, v.91, n.3, p.357-363, 1999.

RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. **Biologia Vegetal**, 6ª edição, Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A. 2001, 928 p.

REIS, E.M.; CASA, R.T. **Manual de identificação e de controle de doenças do milho**. Passo Fundo: Aldeia Norte Editora, 1996. 80 p.

REIS, E.M.; CASA, R.T. Ciclos biológicos e epidemiologia: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Diplodia* e *Fusarium*. In: MOLI, R. ;VALENTINI, M.L. (Ed). **Simpósio sobre micotoxinas em grãos**. Santo Amaro: Fundação Cargill, Fundação ABC, 1999. p.21-40.

REIS, E.M.; CASA, R.T.; BRESOLIN, A.C.K. **Manual de Diagnose e Controle de Doenças em Milho**. 2ª edição, Lages: Graphel, 2004, 139 p.

REIS, E.M., DENTI, E., TRENTO, S.M., CASA, R.T. ;SEVERO, R. Método par quantificar os danos no rendimento de grãos causados pelas podridões da base do colmo do milho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v.23, p.300. 1998.

ROMANO, M.R. **Desempenho fisiológico da cultura de milho com plantas de arquitetura contrastante: parâmetros para modelos de crescimento**. 2005. 100f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Piracicaba, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2005.

ROUET-MAYER, M.; BUREAU, J.; LAURIERI, C. Identification and characterization of lipoxygenase isoforms in senescing carnation petals. **Plant Physiology**, Minneapolis, v.98, p.971-978, 1992.

SANGOI, L.; ALMEIDA, M.L. de.; GRACIETTI, M.A. BIANCHET, P., HORN, D. **Sustentabilidade do colmo em híbridos de milho de diferentes épocas de cultivo em função da densidade de plantas**.

<<http://www.cav.udesc.br/rca/arquivos/2002/n2/Sangoi2002n2.pdf> Acesso em 20 jul. 2009.

SANTÚRIO, J.M. Minimizando perdas e/ou uso de ingredientes não contaminados por micotoxinas. In.: XVIII CONGRESSO LATINOAMERICANO DE AVICULTURA, 2003, Santa Maria. **Resumos...** Santa Maria: UFSM, 2003. 22 p.

SARAVITZ, D.M.; SIEDOW, J.N. The differential expression of wound-inducible lipoxygenase genes in soybean leaves. **Plant Physiology**, Minneapolis, v.110, p.287-299, 1996.

SIEDOW, J.N. Plant lipoxygenase: structure and function. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.42, p.145-188, 1991.

SILVA, D.J.; VENEGAS, V.H.A.; RUIZ, H.A.; SANTÀNNA, R.. Translocação e redistribuição de enxofre em plantas de milho e de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v.38, n.6, p.715-721; 2004.

SILVA, M.D. **Avaliação bioquímica da Via das Lipoxigenases em plantas de soja infectadas com cancro da haste**. 1999. 43f. Tese (Mestrado em Agronomia). Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1999.

SMITH, D.R. ;WHITE, D.G. Disease of corn. In: SPRAGUE, G.F.; DUDLEY, J.W. (Ed). **Corn and corn improvement**. Madison: American Society of Agronomy. 1988. p.687-766.

STEPHENSON, L.C.; BUNKER, T.W.; DUBBS, W.E.; GRIMES, H.D. Specific soybean lipoxygenases localize to discrete subcellular compartments and their mRNAs are differentially regulated by source-sink status. **Plant Physiology**, Minneapolis, v.116, p.923-933, 1998.

TOLLENAAR, M.; AGUIKERA, A. NISSANKA, S.P. Grain yield is reduced more by weed interference in an old than in a new maize hybrid. **Agronomy Journal**, Madison, v.89, p.239-246, 1997.

VAUGHN, S.F.; GARDNER, H.W. Lipoxygenase-derived aldehydes inhibit fungi pathogenic on soybean. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v.19, p.2337-2345, 1993.

VICK, B. A.; ZIMMERMAN, D. C. The biosynthesis of jasmonic acid: a physiological role for plant lipoxygenase. **Biochemistry and Biophysics Research Communications**, Oakland, v. 111, p. 470-477, 1983.

VICK, B.; ZIMMERMAN, D.C. Oxidative systems for modification of fatty acids: the lipoxygenase pathway. In: STUMPF, P.K., CONN, E.E. (ed.) **The Biochemistry of Plants**. Orlando: Academic Press, 9:53-97, 1987.

VIEIRA, A.A. Biochemical evaluation of lipoxygenase pathway of soybean plants submitted to wounding. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Viçosa, v.13, p.5-12, 2001.

TRANBARGER, T.J.; FRANCESCHI, V.R.; HILDEBRAND, D.F.; GRIMES, H.D. The soybean 94-kilodalton vegetative storage protein is a lipoxygenase that is localized in paraveinal mesophyll cell vacuoles. **Plant Cell**, Dordrecht, v.3, p.973-987, 1991.

WARREN, H. L., HUBER, D.M., NELSON, D.L.; MANN, O.W. Stalk rot incidence and yield of corn as affected by inhibiting nitrification of fall-applied ammonium. **Agronomy Journal**, Madison, v.67, p. 655-660, 1975.

WITHE, D.G. **Compendium of corn diseases**. 3ª edição. St. Paul: APS Press. 1999. 427 p.

WRIGHT, M.S.; GREENE-McDOWELLE, D.M.; ZERINGUE, JR., H.J., Effects of volatile aldehydes from *Aspergillus*-resistant varieties of corn on *Aspergillus parasiticus* growth and aflatoxin biosynthesis. **Toxicon**, New Orleans, v.38, p.1215-1223, 2000.

ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J.A. Resistência a doenças induzidas pela nutrição mineral das plantas. *Informações Agronômicas*, n.75, 1996, p.1-15. (Encarte Técnico - POTAFOS)

ZANATTA, A.C.A.; OERLECKE, S. Efeito de Genes de nanismo sobre alguns caracteres agronômicos e morfológicos de *Triticum aestivum* (L.) Thell. **EMBRAPA** – Empresa de Pesquisa Agropecuária Brasileira, Passo Fundo, v.26, p.1001-1016, 1991.

ZERINGUE, H. J.; BROWN, R. L.; NEUCERE, J. N. Relationship between C<sub>6</sub>-C<sub>12</sub> alkanal and alkenal volatile contents and resistance of maize genotypes to *Aspergillus flavus* and aflatoxin production. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, Washington, DC, v. 44, p. 403-407, 1996.

ZERINGUE, H.J.; McCORMICK, S.P. Relationships between cotton leaf-derived volatiles and growth of *Aspergillus flavus*. **Journal American Oil Chemists Society**; Washington, DC, v.66, n.4, 5f., 1989.

ZERIGUE, H.J.; McCORMICK, S.P. Aflatoxin production in cultures of *Aspegillus flavus* incubet in atmospheres containing selected cotton leaf-derived volatiles. **Toxicon**, New Orleans, v,28, n.4, p.445-448, 1990.

## ANEXOS

**Anexo A:** Análise de solo realizada no talhão onde estava inserido o ensaio.

**Anexo B:** Tabela de doenças que foram avaliadas no final do ensaio.

## Anexo A: Análise de solo do talhão da área do ensaio.

Triângulo		LABORATÓRIO DE ANÁLISES DE SOLOS E FOLHAS																	
Rua Hum 160, Distrito Industrial Fone: (034) 2109-8777 Araguari - MG CEP: 38.446.396 www.adubotriangulo.com.br		ENSAIO K <sup>+</sup> Dow																	
Laudo de Análise de Solo																			
Laudo Nº 2520/2008 Entrada: 19/09/2008 Gerado: 25/09/2008																			
Proprietário: PAULO CESAR DE CARVALHO				Município: INDIANÓPOLIS - MG				Solicitante: FUTURA											
Propriedade: CHAPADA DO IPÊ				Telefone: ( ) -				Área: ARAGUARI											
Cod. Lab.: 3102/2008				Cultura: NÃO INFORMADA				Convênio: OUTROS CONV.											
Amostra: AREA 01				Talhão:				K disponível / trocável											
Resultados da Análise Química:																			
pH H <sub>2</sub> O 1:2,5		P meh-1		P rem.		Na <sup>+</sup> mg dm <sup>-3</sup>		K <sup>+</sup>		S-SO <sub>4</sub> <sup>-</sup>		K <sup>+</sup> Ca <sup>2+</sup> Mg <sup>2+</sup> Al <sup>3+</sup> H+Al		M.O. dag kg <sup>-1</sup>					
5,8		38,7		ns		ns		74		10		0,19 3,8 1,0 0,0 5,80		2,8					
SB t T		V m		Relação entre bases:				Relação entre bases e T (%):											
		%		Ca/Mg Ca/K Mg/K Ca+Mg/K				Ca/T Mg/T K/T H+Al/T Ca+Mg/T Ca+Mg+K/T											
4,99 4,99 10,79		46 0		3,8 20,0 5,3 25,3				35 9 2 54 44 46											
B Cu Fe Mn Zn		Si																	
mg dm <sup>-3</sup>		mg kg <sup>-1</sup>																	
0,39 1,5 43 1,2 2,9		ns																	
Resultados da Análise Textura:																			
Areia Grossa		Areia Fina		Silte		Argila													
g kg <sup>-1</sup>																			
ns				ns		ns													
Níveis ideais de nutrientes no solo segundo Boletim de recomendação CFSEMG(1999). Obs: S-SO <sub>4</sub> <sup>-</sup> , B, Cu, Fe, Mn, Zn fonte: Boletim Técnico 100, IAC (1997).																			
pH Água		K <sup>+</sup>		S-SO <sub>4</sub> <sup>-</sup>		Ca <sup>2+</sup>		Mg <sup>2+</sup>		Al <sup>3+</sup>		H+Al		SB		t		T	
5,5 - 6,5		>80		>10		2,4 - 4,0		0,9 - 1,5		<0,2		<2,0		3,6 - 6,0		4,6 - 8,0		8,6 - 15,0	
V		m		M.O.															
60 - 80		<20		2,1 - 4,5															
Argila		P meh <sup>-1</sup>		P rem.		P meh <sup>-1</sup>													
60-100		8,1 - 12		0 - 4		6,1 - 9													
35 - 60		12,1 - 18		4 - 10		8,5 - 12,5													
15 - 35		20,1 - 30		10 - 19		11,5 - 17,5													
0 - 15		30,1 - 45,0		19 - 30		15,9 - 24													
				30 - 44		21,9 - 33													
				44 - 60		30,1 - 45													
Fertigrama do Solo:																			
<b>Observações:</b> A interpretação de Al, H+Al, m e H+Al/T lê-se Alto e Muito Alto no lugar de Bom e Muito Bom. Fertigrama apresentado como mera sugestão ilustrativa. O laboratório não responsabiliza por interpretações dos resultados das análises. Para recomendações de calagem e adubação, consulte um Engenheiro Agrônomo. Este laudo não tem fins jurídicos. Após noventa dias todas as amostras serão descartadas.																			
						<b>SÉRGIO RUBENS MANSANO</b> Responsável Técnico CREA: 3058-D													
Página 2																			



**Anexo B:** Tabela de doenças que foram avaliadas no final do ensaio:

Tratamento	Híbridos	Doses de K <sub>2</sub> O Kg/ha					
		64		120		180	
		PMS	DMB	PMS	DMB	PMS	DMB
Sem Fungicida	2B707	9,0	2,0	8,0	3,0	9,0	2,0
	2B710	9,0	6,0	8,0	5,0	8,0	6,0
	DKB390	8,0	5,0	8,0	3,0	7,0	4,0
	DKB390Y	6,0	4,0	7,0	4,0	7,0	4,0
	IMPACTO	6,0	7,0	5,0	7,0	6,0	8,0
	IMPACTO						
	BT11	5,0	7,0	5,0	8,0	5,0	8,0
	<b>Média</b>	7,2	5,2	6,8	5,0	7,0	5,3
Com Fungicida	2B707	8,0	5,0	8,0	7,0	8,0	6,0
	2B710	8,0	7,0	8,0	7,0	8,0	7,0
	DKB390	6,0	7,0	6,0	7,0	6,0	7,0
	DKB390Y	6,0	6,0	5,0	7,0	6,0	7,0
	IMPACTO	7,0	8,0	6,0	8,0	6,0	8,0
	IMPACTO						
	BT11	7,0	8,0	6,0	9,0	5,0	9,0
	<b>Média</b>	7,0	6,8	6,5	7,5	6,5	7,3