

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE GENÉTICA E BIOQUÍMICA
PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA

Justino Luiz Mario

Reação de Híbridos de Milho à Podridão dos Grãos causada por
Stenocarpella macrospora e *Stenocarpella maydis*, **em diferentes**
ambientes do Brasil

Orientador: Prof. Dr. Fernando Cezar Juliatti

Uberlândia - MG

2010

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE GENÉTICA E BIOQUÍMICA
PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA

Justino Luiz Mario

Reação de Híbridos de Milho à Podridão dos Grãos causada por
Stenocarpella macrospora e *Stenocarpella maydis*, **em diferentes**
ambientes do Brasil

Orientador: Prof. Dr. Fernando Cezar Juliatti

Tese apresentada à Universidade Federal de Uberlândia como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Genética e Bioquímica.

Uberlândia – MG

2010

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

M341r Mario, Justino Luiz, 1956-
2012 Reação de híbridos de milho à podridão dos grãos causada por
 Stenocarpella macrospora e *Stenocarpella maydis*, em diferentes
 ambientes do Brasil / Justino Luiz Mario. -- 2012.
 53 f.

Orientador: Fernando Cezar Juliatti.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pro-
grama de Pós-Graduação em Genética e Bioquímica
Inclui bibliografia.

1. Genética - Teses. 2. Milho - Doenças e pragas - Teses. 3.
Milho - Resistência a doenças e pragas - Teses. I Juliatti, Fernan-
do Cezar. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de
Pós-Graduação em Genética e Bioquímica. III. Título.

CDU: 575



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE GENÉTICA E BIOQUÍMICA
PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOQUÍMICA

Justino Luiz Mario

**Reação de Híbridos de Milho à Podridão dos Grãos causada por
Stenocarpella macrospora e *Stenocarpella maydis*, em diferentes
ambientes do Brasil**

COMISSÃO EXAMINADORA

Presidente: Prof. Dr. Fernando Cezar Juliatti (Orientador)

Examinadores:

Prof. Dr. Julio C. Viglioni Penna

Prof.Dr. Renzo G. Von Pinho

Prof. Dr. Erlei M. Reis

Prof. Dr. David de S. Jaccoud Filho

Data da Defesa: 25/02/2010

As sugestões da Comissão Examinadora e as Normas PGGB para o formato da Dissertação/Tese foram contempladas

FERNANDO CEZAR JULIATTI

Aos meus pais

**Realdo (*in memoriam*) e Santina,
pelo amor, exemplo e educação.**

AGRADECIMENTOS

À Deus, por sua presença constante em minha vida, me dando força coragem e Sebedoria.

À Monsanto company, pelos recursos genéticos e materiais providenciados para elaboração do presente estudo. E aos Diretores Humberto Gutierrez e John Schopper, pela oportunidade de realizar o curso de Doutorado.

Ao professor Julio C. V. Penna, pela amizade, incentivo e, também, pela orientação e desafios durante o curso de Doutorado.

Ao Reinaldo Garcia e à todos os funcionários da Unidade de Pesquisa de Uberlândia, principalmente ao grupo do Di-haplóides, pela compreensão e ajuda indispensável para a realização deste curso.

Aos colegas e amigos Maurício Barbosa e Otávio Solferini, pela amizade, pelos conselhos e auxílio nos manuscritos.

Às colegas Aliny F. Alves e Jocasta G. Lopes, pelo coleguismo e apoio nas leituras das análises de laboratório, e na confecção das tabelas.

Ao Colega Heyder Diniz Silva, pela orientação no desenvolvimento da análise estatística e dos manuscritos.

Ao pesquisador e colega Antônio C. Silva, pela orientação no projeto e planejamento do experimento a campo.

Aos professores, Ana Maria Bonetti, Foued Salmen Espindola, Luiz R. Goulart, pelos ensinamentos e companheirismo.

À professora Daurea A. de Souza, pelos ensinamentos criteriosos nos hábitos alimentares e na correta forma de nos alimentar.

Por fim, gostaria de agradecer ao meu orientador Fernando Cezar Juliatti, pelos ensinamentos recebidos e pela orientação e ajuda criteriosa na elaboração dessa tese. Muito Obrigado.

Sumário

1 Apresentação.....	01
2 Fundamentação Teórica.....	03
2.1 Etiologia e sintomatologia.....	03
2.2 Fontes de inóculo.....	04
2.3 Sobrevivência e disseminação.....	05
2.4 Importância econômica.....	06
2.5 Manejo da doença.....	07
2.5.1 Rotação de culturas.....	08
2.5.2 Controle do patógeno associado à semente.....	09
2.5.3 Balanço adequado da fertilidade do solo.....	10
2.5.4 População de plantas	11
2.5.5 Resistência genética.....	11
2.6 Uso de fungicidas na parte aérea.....	13
2.7 Marcadores moleculares.....	13
2.8 Linhagens duplo-haplóides.....	14
Referências.....	15
Capítulo Único.....	22
RESUMO.....	23
ABSTRACT.....	24
3 INTRODUÇÃO.....	25
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	27
4.1. Síntese dos híbridos, ambientes e protocolo de avaliação.....	27
4.2. Origem dos isolados e isolamento.....	28
4.3. Preparo do inóculo.....	29
4.4. Inoculação das plantas.....	29
4.5. Obtenção da amostra e análise dos dados.....	30
4.6. Análise da variância.....	31
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
5.1. Análise fenotípica.....	32
5.2 Análise da incidência de grãos ardidos.....	37
6 CONCLUSÕES.....	44
REFERÊNCIAS.....	45
Anexos.....	49

Lista de Tabelas

Tabelas:

Tabela 1. Estatísticas descritivas da porcentagem da incidência de grãos ardidos causados por *Stenocarpella* spp. nos 140 híbridos duplo-haplóides para cada localidade através dos ambientes avaliados na região Central e Sul do Brasil durante a Safra agrícola 2006/07.....32

Tabela 2. Análise de variância conjunta, para porcentagem de grãos ardidos por *Stenocarpella* spp. na avaliação de três localidades no Triângulo Mineiro e no Sul do Brasil, na Safra agrícola 2006/07..... 33 e 34

Tabela 3. Incidência de podridão de grãos (GA) para os cruzamentos teste selecionados entre as progênies duplo-haplóides resultado do cruzamento entre MLR1 (progenitor resistente) e MLS1 (progenitor suscetível) pelo testador susceptível MLS4 em comparação com as testemunhas, na análise conjunta, do Triângulo Mineiro e Sul do Brasil.....35

Lista de figuras:

Figura 1. Distribuição das freqüências de incidência de podridão de grãos causada por *Stenocarpella* spp. (GA) nos *cruzamentos teste* resultante do cruzamento das progênies duplo-haplóides pelo testador susceptível MLS4.....37

Figura 2. Incidência da podridão de espiga causada por *Stenocarpella macrospora* e *S. maydis* e outros fungos, dos híbridos selecionados na análise conjunta Triângulo Mineiro, e também com as amostras provenientes dos três locais do Sul.....38

Figura 3. Incidência da podridão de grãos (GA) causada por *Stenocarpella macrospora* e *S. maydis* e outros fungos, dos 15 híbridos selecionados na análise conjunta Triângulo Mineiro, com a distribuição nos três locais do Triângulo Mineiro e os mesmo híbridos nos três locais do Sul.....39

Figura 4. Incidência da podridão de grãos incitada por *Stenocarpella macrospora* e *S. maydis*, dos híbridos selecionados na análise conjunta do Sul, e também com as amostras provenientes dos três locais do Triângulo Mineiro.....40

Figura 5. Incidência da podridão de grãos (GA) causada por *Stenocarpella macrospora* e *S. maydis* e outros fungos, nas amostras dos 15 híbridos selecionados na análise conjunta Sul, com a distribuição nos três locais do Sul e do Triângulo Mineiro.....42

1 Apresentação

O milho (*Zea mays* L.) é um dos cereais que podem ser cultivados em todos os continentes, em virtude de sua ampla adaptação climática e de diversificado germoplasma. Esse cereal é o principal alimento de milhões de pessoas na América Latina, Ásia e África, fornecendo 15% das proteínas e 19% das calorias produzidas anualmente no mundo (PANDEY; KNAPP, 1992).

A produção anual de milho no mundo é reduzida em 7 a 17% devido à ocorrência de doenças. Já foram descritas pelo menos 40 moléstias que infectam a planta do milho nos vários locais em que é cultivado (PANDEY; KNAPP, 1992).

A cultura do milho ocupa o segundo lugar em importância no Brasil sendo cultivado em mais de 12,5 milhões de hectares o que coloca como terceiro maior produtor do mundo, com uma produção anual estimada em 50,1 milhões de toneladas, atrás apenas dos Estados Unidos e a China (PINGALI, 2001; COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, 2010).

Na América Central, as doenças causadas por *Stenocarpella* spp. têm provocado reduções médias na produção que variam de 19 a 27% (PADILLA et al., 1990), mas que podem atingir até 100% em lavouras de monocultivo (DEL RIO; ZUNIGA, 1991).

Entre os fatores que limitam a produtividade da cultura, além do clima predominantemente tropical, está o fato de a cultura estar praticamente presente em grande parte do ano (safra e safrinha), e a combinação com a prática do plantio direto, o que, em conjunto, favorece uma alta incidência de pragas e doenças.

Com a expansão da cultura para áreas de maior altitude, principalmente nos Cerrados, o uso de plantio direto e o aumento nas densidades de plantio, entre outros fatores a mancha foliar de macrospora e as podridões de espiga passaram a ter maior importância como um fator determinante na escolha dos híbridos por parte do agricultor.

Os principais fungos causadores das podridões do colmo e de espiga, no Brasil pertencem aos gêneros *Stenocarpella* spp., *Fusarium* spp. e *Gibberella* spp.

As podridões de espiga depreciam a qualidade dos grãos de milho e podem resultar em perdas diretas no rendimento estimado em até 20-30% em cultivares altamente suscetíveis. Por outro lado, a indústria que utiliza o grão, como matéria prima para fabricação de rações, tem se preocupado com a qualidade do produto, pois os chamados grãos ardidos, com incidências maiores de 6% podem resultar em perdas econômicas, e incidências maiores de 12%, não são aceitos para comercialização, descartando o produto colhido (JULIATTI et al., 2007).

A necessidade de se desenvolver novas cultivares resistentes concentra grande parte dos recursos de melhoramento na identificação de fontes duráveis de resistência, o conhecimento da herança e seu modo de ação, além da disponibilidade de ambientes ou técnicas de inoculação que permitam a exposição do material genético à seleção (JULIATTI et al., 2007).

Embora existam técnicas de inoculação que facilitam a discriminação de materiais resistentes dos suscetíveis, o número de acessos que pode ser avaliados requeira grande quantidade de recursos, e a diferenciação entre *Stenocarpella macrospora* e *S. maydis*, pode direcionar os programas de melhoramento a usar os germoplasmas específicos para cada patógeno na área de atuação do seu programa. A revisão de literatura encontra-se um número limitado de estudos focalizando germoplasma tropical e menor ainda relacionado à identificação desses dois patógenos associados à resistência (MARIO et al, 2011).

Os objetivos do presente estudo foram: i) determinar a reação de resistência dos híbridos simples de milho suscetíveis à podridão de grãos causada por *Stenocarpella* spp., utilizando um grupo de linhagens duplo-haplóides produto do cruzamento de progenitores contrastantes, para sua resposta à podridão de espiga. ii) Avaliar a prevalência das *Stenocarpella* spp. nas áreas de estudo do Triângulo Mineiro e Sul do Brasil. Iii) Com as fontes de resistência à podridão da espiga causada por *Stenocarpella*, essas, podem ser utilizadas na incorporação dos germoplasmas nos programas de melhoramento.

2 Fundamentação Teórica

- a) Dentro das técnicas atuais é possível via inoculação natural e ou artificial de *Stenocarpella macrospora* e *S. maydis* e usando duplo haplóides é possível caracterizar a resistência genética às podridões por diplodia;
- b) A técnica de obtenção de linhagens duplo haplóide permite por meio de cruzamentos entre parentais contrastantes permite em diferentes ambientes e locais detectar variação genética para caracterizar e identificar genótipos resistentes;
- c) É possível obter estabilidade de genótipos de milho em relação à podridão de espigas e grãos ardidos por diplodia na região dos cerrados (Triângulo Mineiro) e sul do Brasil.

2.1 Etiologia e sintomatologia

A podridão de espiga causada por *Stenocarpella* é a mais freqüente das podridões encontradas no milho. Os agentes causais da doença são *Stenocarpella maydis* e *Stenocarpella macrospora*, sendo o primeiro mais freqüente (KIMATI et al., 2005).

Estas duas espécies apresentam no campo, somente a forma imperfeita ou assexuada, sendo a forma teleomórfica desconhecida. Podem causar podridão do colmo, da espiga e mancha foliar (CASA et al., 2006) sendo que a mancha foliar é característica de *S. macrospora* (LATTERELL; ROSSI, 1983; MORANT et al., 1993).

As espigas infectadas apresentam grãos marrons, de baixo peso e, em condições de alta umidade, há formação de micélio branco entre as fileiras de grãos (SHURTLEFF, 1992). O desenvolvimento da doença pode atingir toda a espiga, geralmente iniciando-se pela base. A presença de numerosas e pequenas estruturas negras, denominadas picnídios, nos grãos e nas palhas, caracteriza a presença desses patógenos (PINTO, 2006; WOLOSHUK, WISE, 2008).

Comumente, infecções precoces resultam em branqueamento e desenvolvimento do fungo entre as palhas, tornando as espigas leves e com palhas aderidas. Picnídios pretos podem ser formados sobre a palha e dentro dos grãos. Espigas infectadas tardiamente não mostram sintomas externos, mas quando são colhidas e os grãos removidos, um mofo branco é normalmente encontrado desenvolvendo-se entre os grãos, e as suas extremidades ligadas ao sabugo apresentam cor marrom ou preta (ROSSOUW et al., 2002a; DINTO, 2006).

Quando a infecção ocorre duas semanas após a polinização, toda a espiga pode tornar-se podre, apresentando coloração pardo-cinza a esbranquiçada, enrugada e leve, com as palhas internas fortemente aderidas umas as outras ou aos grãos, devido ao crescimento do micélio do fungo. Os picnídios negros podem formar-se sobre a palha, brácteas florais, sabugo e grãos. Os grãos infectados apresentam cor cinza fosco a marrom (WOLOSHUK; WISE, 2008).

As espigas infectadas ao final do ciclo da cultura não mostram sintomas externos e, quando são despalhadas e os grãos assintomáticos removidos, o micélio branco pode ser visto crescendo entre os grãos remanescentes nas espigas. Alguns isolados de *S. maydis* induzem a viviparidade, ou seja, a germinação prematura dos grãos. Tanto no colmo como na espiga não é possível determinar se a infecção foi causada por *S. maydis* ou *S. macrospora*, apenas com base nos sintomas (MARIO et al., 2003; SILVA, et al., 2005; CASA et al., 2006, MARIO et al, 2011).

As duas espécies podem ser diferenciadas com base na forma, tamanho, número de células e cor dos conídios, em meio de cultura (REIS; CASA, 2004) ou pela coloração das colônias no método de papel de filtro (MARIO; REIS, 2001).

2.2 Fontes de inóculo

As sementes infectadas constituem importante fonte de inóculo primário podendo causar podridão de semente, morte de plântulas e podridão de raízes. A associação de *S. maydis* e *S. macrospora* com as sementes de milho constitui importante fonte de inóculo primário para o surgimento de podridões de

sementes, de raízes e morte de plântulas, sendo na maioria dos casos responsável pela introdução dos fungos em novas áreas de cultivo, mesmo distantes de seu local de produção (CASA, 2000).

Quando a semente é hidratada, ao entrar em contato com a água do solo, o micélio do fungo, que se encontra no endosperma ou no embrião, reassume sua atividade vital e passa a crescer do interior à superfície da semente. Ao crescer sobre a semente, o fungo acaba alcançando as raízes e o coleóptilo das plantas e pela colonização do coleóptilo atinge a superfície do solo (CASA, 1997; PINTO, 2006). A quantificação da transmissão é fundamental em lavouras onde a cultura nunca foi implantada ou naquelas cultivadas em rotação de culturas, servindo como indicativo do potencial de inóculo da semente no desenvolvimento inicial de epidemias.

Macdonald e Chapman (1997), em testes de sanidade de sementes de milho em diferentes países, foi detectado com frequência a presença dos fungos *S. maydis* e *S. macrospora*. Mario e Reis (2003), determinaram que os esporos produzidos nos restos culturais foram responsáveis pela infecção de grãos e mancha foliar de milho no campo.

Os resíduos culturais de milho infectados por *S. maydis* e *S. macrospora* que permanecem na superfície do solo de uma estação de cultivo para a outra são considerados a principal fonte de inóculo primário para as podridões do colmo e da espiga e para mancha foliar de *Stenocarpella* (Smith & White, 1988; Shurtleff, 1992; Reis & Casa, 1996). Na palha, os fungos sobrevivem formando picnídios, produzindo e liberando cirros de conídios, que constituem o inóculo primário para as plantas do novo cultivo.

2.3 Sobrevivência e disseminação

Sobreviver é manter a viabilidade sob condições ambientais e nutricionais adversas. A maior ameaça à sobrevivência da maioria dos fitopatógenos, no Brasil, é a inanição (REIS et al., 2011).

O manejo dos restos culturais está diretamente relacionado com o sistema plantio direto no qual toda a palhada é deixada sobre o solo. Este sistema pode criar condições favoráveis à multiplicação e a sobrevivência de fitopatógenos

necrotróficos em restos culturais, pois muitos dependem dessas condições para sobreviver (REIS et al., 2011).

Os fungos *S. maydis* e *S. macrospora* são necrotróficos, com suas fases parasitárias nas plantas de milho e a fase saprofítica nos tecidos necrosados e em restos de culturas. Esses patógenos podem sobreviver fora da época de cultivo do milho como micélio dormente e ou picnídios, no interior das sementes e, ainda, colonizar raízes, colmos, bainha foliar, palha da espiga, sabugo e grãos. *S. maydis* também pode sobreviver livre no solo, sob a forma de conídios ou de micélio dormente (DEL RIO; MELARA, 1991; MARIO; REIS, 2003).

Os esporos levados pelo vento depositam-se nas folhas e são levados pelo escoamento da água das folhas para as axilas, sendo o pedúnculo da espiga o principal sítio de infecção desses patógenos (BENSCH, 1995, CASA et al., 2004).

Flett e outros (2001) reportaram maiores níveis de infecção de *S. macrospora* e *S. maydis* em condições de monocultura de milho quando comparados com áreas que utilizam a rotação de cultura. O cultivo do trigo, soja, e o amendoim foram os que mais efetivas na redução de incidência de *S. maydis*, ficando o girassol como o menos efetivo. Citaram também, uma relação linear positiva entre a disponibilidade de restos culturais, quantidade de picnídios e podridão de espiga e do colmo por *Stenocarpella* spp.

A maior incidência de grãos ardidos ocorreu em monocultura, com média de 10,1%, enquanto sob rotação de culturas foi de 4,8%. À medida que a densidade de plantas aumentou para os dois sistemas, a incidência de grãos ardidos foi maior. Os principais fungos isolados dos grãos de milho nos sistemas de rotação e monocultura foram *Cephalosporium* spp., *Diplodia* spp., *Fusarium graminearum*, *F. verticillioides* e *F. subglutinans* (TRENTO et al., 2002).

2.4 Importância econômica

As podridões do colmo são consideradas as doenças mais importantes na cultura do milho, ocorrem em todas as lavouras, todas as safras de cultivo, com incidência e severidade variada.

Nazareno (1989) detectou incidência de 15 a 85 % e danos no rendimento de grãos de 12 a 40 %. Posteriormente, Denti *et al.* (1999), determinaram incidências de 4 a 72 % com danos variando de 0,67 a 50 %. A podridão do colmo interfere no desenvolvimento normal da planta, afetando suas funções, ocasionando quebra da base do colmo, acamamento e morte prematura da planta (SHURTLEFF, 1992; REIS;CASA, 1996; WHITE, 1999). O dano causado pela morte prematura da planta, no final do ciclo da cultura, reflete no processo de enchimento de grãos.

No Brasil, a podridão branca da espiga causada por *Stenocarpella maydis* normalmente é mais severa em regiões com altitudes acima de 700m, temperaturas moderadas e, principalmente, em ambientes onde a umidade relativa for acima de 70% (PEREIRA,1995). A doença é mais comum e severa em locais onde os restos de cultura infectados permanecem na superfície do solo, isto é, sob monocultura e plantio direto (SHURTLEFF, 1992; TRENTON, 2002). A ocorrência da doença incitada por *Stenocarpella macrospora* é mais comum em regiões de altitude superior 500m, e com umidade relativa do ar acima de 40% (DEL RIO,1990; CASA et al., 2004).

Além dos danos físicos provocados por esses fungos nos grãos, expressos por descoloração (grãos ardidos) e pela redução dos teores de carboidratos, proteínas, aminoácidos, açúcares totais e cinzas. Ocorrem também os danos qualitativos relacionados com a síntese de micotoxinas, pois o fungo *Stenocarpella macrospora* produz a toxina diplodiol e *Stenocarpella maydis* produz diplodiatoxina, as quais são tóxicas para aves e bovinos (CUTLER et al., 1980; PROZESKY et al.,1994), assim atualmente os grãos ardidos incitados por *Stenocarpella* spp. e *F. verticillioides*, constituem um dos principais problemas de qualidade do milho, devido à possibilidade da presença destas micotoxinas. (PINTO, 2006).

2.5 Manejo da doença

As principais estratégias no controle das doenças incitadas por *S. maydis* e *S. macrospora* são: resistência varietal, rotação de culturas, tratamento de

sementes, balanço adequado de fertilidade do solo e redução da alta densidade de plantas (REIS; CASA, 1996; WHITE, 1999, JULIATTI et al, 2006).

A dificuldade de obtenção de variedades resistentes às podridões do colmo e da espiga, aliado ao fato de que fungo *Stenocarpella* infectar exclusivamente plantas de milho, não forma estruturas de resistência e com conídios dispersados a curtas distâncias, são fatores que propiciam manejar a doença manipulando as condições de pré-semeadura, de maneira a reduzir ou eliminar o inóculo dos patógenos, usando integradamente sementes saudáveis ou tratadas com fungicidas e doses eficientes e a rotação de culturas, associadas às plantas resistentes.

2.5.1 Rotação de culturas

Sob o ponto de vista fitopatológico, rotação de culturas consiste na semeadura de uma espécie vegetal, num mesmo local da lavoura, na mesma estação de cultivo, onde os restos culturais do cultivo anterior foram eliminados biologicamente (Reis & Casa, 1996). Nesta situação a palha foi eliminada pela ação decompositora dos microrganismos do solo; foi biologicamente degradada de tal maneira que o inóculo dos agentes necrotróficos presentes na resteva e que não formem estruturas de resistência, ou ainda o inóculo inicial foi eliminado ou mantido abaixo do limiar numérico de infecção. Contrariamente, monocultura consiste no cultivo da mesma espécie vegetal, no mesmo local da lavoura, onde estão presentes seus próprios restos culturais (REIS;CASA, 1996).

Em geral a intensidade das doenças de plantas causadas por agentes necrotróficos é maior em plantio direto e monocultura. Esse aumento deve-se a maior disponibilidade de inóculo e de sua proximidade das plântulas da nova semeadura. Por isso, o plantio direto é incompatível com a monocultura. Por outro lado, a rotação de culturas elimina este inconveniente do plantio direto.

O efeito principal da rotação de culturas relaciona-se a fase de sobrevivência do patógeno, os patógenos são submetidos a uma intensa competição microbiana, durante a qual, geralmente, levam desvantagem. Correm, também, o risco de não encontrar o hospedeiro, o que determina, geralmente, sua morte por desnutrição.

Como os patógenos *S. maydis* e *S. macrospora* sobrevivem nos restos culturais, o plantio de milho após infecção severa das plantas pode resultar em reincidência da doença. Assim, em sistemas de plantio direto de milho sem a rotação de culturas, ocorre o aumento do potencial de inóculo destes patógenos na área de cultivo. O mesmo fato pode acontecer em áreas onde se pratica a sucessão de culturas, onde os campos de milho estão sempre sujeitos à infecção da podridão branca da espiga (FLETT et al., 2001; CASA et al., 2006).

Lembra-se que a intensidade das doenças causadas por *S. maydis* e *S. macrospora* está relacionada com quantidade de resíduos culturais presentes na superfície do solo, além disso, os fungos infectam exclusivamente plantas de milho e não formam estruturas de resistência (FLETT; WEHNER, 1991; SHURTLEFF, 1992; REIS; CASA, 1996). Dessa maneira, o milho somente deverá voltar a ser cultivado na mesma lavoura quando a densidade de inóculo de *Stenocarpella* estiver abaixo do limiar numérico de infecção. Portanto, a rotação de culturas, com espécies vegetais não suscetíveis, constitui-se numa estratégia eficiente no controle da podridão do colmo, podridão branca da espiga e mancha foliar causadas por *Stenocarpella*.

Outros patógenos também podem infectar o milho, sendo assim, muito importante à ação do homem na escolha das espécies vegetais alternativas que possam integrar o sistema de rotação de culturas. Geralmente, as espécies de plantas de folhas largas, como por exemplo, a soja e o feijão, são as culturas que integram o sistema de rotação visando à exploração econômica da atividade agrícola (REIS; CASA, 1996; CASA et al., 2000).

2.5.2 Controle do patógeno associado à semente

Em plantio direto, a sustentabilidade da cultura do milho poderá ser alcançada pelo uso de sementes livres dos patógenos e/ou com baixa incidência, pelo tratamento de semente com fungicidas que levem a erradicação dos fungos e pela rotação de culturas (REIS; CASA, 1996; CASA et al., 2000).

A semente de milho infectada por *S. maydis* e *S. macrospora* introduz o inóculo nas lavouras de rotação de culturas ou onde a gramínea nunca foi cultivada. O processo de transmissão dos patógenos da semente para as plantas

ocorre normalmente com micélio do fungo colonizando o sistema radicular e a base do colmo (CASA *et al.*, 1998b). Posteriormente, sob monocultura, os patógenos sobrevivem na fase saprofítica, multiplicando-se nos restos culturais. Esse processo resulta num aumento do inóculo disponível, e dependendo do clima pode resultar em epidemias com danos e perdas na cultura.

O tratamento de sementes de milho com fungicidas têm como objetivos controlar fungos associados à semente e protegê-las contra aqueles do solo (CASA *et al.*, 1995; REIS *et al.*, 1995; PINTO, 1996). A finalidade do controle de *S. maydis* e *S. macrospora* associados à semente é evitar a transmissão semente-plântula, evitando ou reduzindo a intensidade de podridões de raízes e da base do colmo na lavoura. A erradicação de *S. maydis* e *S. macrospora* associados às sementes de milho tem sido obtida com o uso de mistura de fungicidas, doses eficientes e qualidade do tratamento (CASA, 1997; CASA *et al.*, 1998b).

2.5.3 Balanço adequado da fertilidade do solo

Quando a planta não produz carboidratos em quantidade suficiente, a competição leva os tecidos da raiz e da base do colmo senescerem precocemente. À medida que as células iniciam o processo de senescência, seus tecidos tornam-se mais predispostos à colonização dos fungos. O ponto chave é a disponibilidade de nitrogênio (N) e potássio (K), em quantidade suficiente para satisfazer a demanda do metabolismo da planta durante todo o período de crescimento. A falta ou desequilíbrio de N e K contribui para o aumento das podridões do colmo. O balanço e o fornecimento contínuo de N mantém as células da medula ativa por um período mais longo de tempo. O K está envolvido com as funções estomatais bem como as vias metabólicas. Quando a planta encontra-se deficiente de K, a taxa de fotossíntese é reduzida, podendo resultar na senescência mais rápida da medula (SMITH; WHITE, 1988; WHITE, 1999).

Foley e Wernham (1954) determinaram que uma alta proporção de N:K (200:0) aumentou a severidade interna da podridão do colmo, a quebra do colmo e a morte prematura. Entretanto, White *et al.* (1978) mostraram que a podridão do colmo diminuiu com o aumento crescente das doses de nitrogênio. Blum e outros

(1998) relataram uma redução de aproximadamente 3% na incidência de grãos ardidos com o aumento de doses de N aplicado em cobertura.

2.5.4 População de plantas

À medida que a população de plantas aumenta, a demanda por nutrientes e água também é incrementada e, quando não for devidamente suprida qualitativa e quantitativamente, pode predispor as plantas à infecção. Denti (2000) relatou que independentemente da rotação ou da monocultura, o aumento populacional determinou incremento na incidência das podridões do colmo. Trento (2000) verificou que a medida que aumentou a população de plantas aumentou linearmente a incidência de grãos ardidos. Nestes trabalhos, os autores estudaram populações de 30, 40, 50, 60 e 70 mil plantas/ha, em sistema plantio direto em monocultura e rotação de culturas. Em ambos experimentos a incidência da podridão do colmo e grãos ardidos foi maior em monocultura, comparado à rotação de culturas.

Blum e outros (1998), também haviam relatado um aumento de aproximadamente 5 % na incidência de grãos ardidos quando a população de plantas aumentou de 50 para 70 mil plantas/ha. A população final de plantas interfere diretamente na produção da cultura do milho. Casa e outros (2007) testaram cinco densidades de plantio 25, 50, 75, 100 e 125 mil plantas ha^{-1} . e observaram que aumento da densidade de plantas, proporcionou incremento linear na incidência das podridões do colmo e grãos ardidos para os dois híbridos e duas safras avaliadas.

Antes de levar em consideração o potencial de rendimento do híbrido, analisando-se o custo benefício entre a porcentagem de redução no rendimento (Kg ha^{-1}) ou desconto por grãos ardidos (%) em relação a produtividade final, uma vez que há diferenças entre híbridos comerciais na reação à podridão de colmo e incidência de grãos ardidos.

2.5.5 Resistência genética

Trabalhos sobre a ação gênica na resistência genética para podridões de espiga são raros. Um dos primeiros relatado foi o da ação gênica aditiva (Koehler,1953), e até parcialmente dominante (Wiser et al., 1960), e com o uso de inoculação artificial indicou possuir uma herança genética quantitativa (DORRANCE et al., 1998, OLATINWO et al.,1999; ROSSOUW et al., 2002b)

Segundo Dorrance e outros (1998) os efeitos da capacidade geral de combinação (CGC) mostraram ser de maior importância ao longo de anos, quando comparado aos efeitos de capacidade específica de combinação (CEC), que se mostraram inconsistentes. Este estudo consistiu num cruzamento dialélico de nove linhagens, incluindo progenitores com diferentes níveis de resposta à podridão de grão incitados por *Diplodia*. Além de reportar uma maior importância dos efeitos de CGC,os autores relataram também, a ausência de efeitos de cruzamentos recíprocos. Estes resultados demonstram a ausência do efeito materno na expressão da resistência à podridão dos grãos ardidos em milho. Resultados obtidos por Olatinwo e outros (1999), baseados na avaliação de seis diferentes parâmetros do nível de resistência a podridão para cada geração resultante do cruzamento arbitrário de cinco diferentes progenitores (P1, P2, F1, BC1, BC2 e F2), obtiveram efeitos significativos para CGC e CEC ao nível de 5% e 1% de probabilidade respectivamente, também demonstraram a maior importância da CGC na expressão da resistência aos grãos ardidos.

O uso do retrocruzamento pode ser um método viável de introduzir genes resistentes em germoplasmas suscetíveis. Este fato ficou demonstrado na avaliação de 196 linhagens de milho, que mostraram diferentes graus de resistência genética, quanto à reação à mancha foliar de *S. macrospora* (MARIO; PRESTES, 1997).

Rossouw e outros (2002b) reportaram que na resistência à *Diplodia* estão envolvidos efeitos significativos de interação genótipo e ambiente levando à necessidade de conduzir avaliações numa ampla gama de ambientes.

Para identificar de maneira precisa os germoplasmas resistentes, necessita-se utilizar métodos de inoculação artificial (DEL RIO et al., 1991; KLAPPROTH; HAWK, 1991; BENSCH et al., 1992; BENSCH, 1995, SILVA et al.,

2005; MARIO, 2011). Assim, conforme relatado por Mario (1998) o métodos deveriam ser o mais semelhante possível à infecção natural, devendo fornecer também dados consistentes através de anos e locais, possibilitando, assim, a distinção entre materiais resistentes e suscetíveis.

2.6 Uso de fungicidas na parte aérea

Trabalhos recentes demonstram que o uso de fungicidas na parte aérea do milho a partir do estágio V6 e R1 reduzem a incidência de grãos ardidos em milho devido a redução da severidade foliar de *Stenocarpella macrospora* e a podridão do colmo e espiga tanto por *S. macrospora* e *S. maydis*, pois o efeito destas moléculas reduzem a infecção nos dois órgãos reduzindo assim a presença dos grãos ardidos e melhorando a qualidade do grãos ou semente colhidos (JULIATTI *et al.*, 2007). Neste caso o volume de calda e a tecnologia de aplicação devem ser adequados aos diferentes sistemas de produção no Brasil, seja safra ou safrinha ou ainda segunda safra (JULIATTI *et al.*, 2012).

2.7 Marcadores moleculares

O melhoramento assistido por marcadores moleculares para incorporar resistência a podridão de grãos, mostra-se de grande utilidade pela complexidade da resistência a podridão de espiga incitado por *Stenocarpella* spp. (DORRANCE *et al.*, 1998; RUSSOW *et al.*, 2002b; GUTIERREZ, 2008).

Atualmente, os marcadores moleculares também têm sido usados para o mapeamento de QTLs de resistência (BROWN *et al.*, 2001; PEREZ BRITO *et al.*, 2001, LIAKET *et al.*, 2005, LEILANI *et al.*, 2006), mas quando analisados isoladamente estes estudos não são conclusivos, pois demonstram pouca concordância quanto ao número e a localização dos QTLs.

Gutierrez (2008) em seu trabalho identificou três QTL's significativos para resistência à podridão de grãos por *Stenocarpella* spp., Q1, localizado no cromossomo 2 entre as posições 36.5 e 55.4 cM, Q2, no cromossoma 3, entre as posições 83.2 e 99.2, e Q3, no cromossomo 5, entre as posições 90.7 e 107.6

cM. Estes QTL's expressaram 7%, 9% e 10% da variância fenotípica para podridão de grãos, respectivamente.

2.8 Linhagens duplo-haplóides

O mapeamento genético baseado na utilização de linhagens duplo-haplóides tem sido relatado em cevada e arroz (ZI CHAO, 2005). A sua utilização no cultivo de milho tem sido escassa, devido principalmente às limitações para a produção consistente de um número de linhagens adequado para os programas de melhoramento (BELICUAS et al., 2007). Para Bernardo (2009) esta alternativa reúne vantagens de obtermos delineamento de linhagens puras e recombinantes com o maior poder de detecção entre Progenies F1 e F2, onde as linhagens duplo-haplóides obtidas das progênies F2 têm um ganho no rendimento de 4-6%, quando comparadas com as linhagens obtidas das progênies F1.

Referências

BENSCH, M.J. VAN STADEN, J.; RIJKENBERG, F.G. Time and Site of inoculation of Maiz for optimum infection of Ears by *Stenocarpella maydis*. **Journal of Phytopathology**, Berlim, v.136, p.265-269, 1992.

BENSCH, M.J. *Stenocarpella maydis* (Berk). Sutton colonization of maize ears. **Journal of Phytopathology**, Berlim, v.143, p.597-599,1995.

BELICUAS, P.R, et al. Androgenetic haploids and SSR markers as tools for the development of tropical maize hybrids. **Euphytica**, Wagening, v.156, p.95-102, 2007.

BERNARDO, R. Should maize double haploids be induced among F1 or F2 plants? **Theor Appl Genetic.**, v.119, p. 255-262. 2009.

BROWN, A. F, et al. "Quantitative trait loci in sweet corn associated with partial resistance to Stewart's wilt, northern corn leaf blight, and common rust." **Phytopathology**, Saint Paul, v.91, n 3, p.293-300, 2001.

LUM, M.M.C.*Pyrenophora avenae*: **ocorrência, inóculo, patogenicidade e sobrevivência**. Porto Alegre, 1997. 111f. (Dissertação Mestrado), Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1997.

CASA, R.T. *Diplodia maydis* e *D. macrospora* **associadas à semente de milho**. (Dissertação Mestrado). Viçosa-MG. Universidade Federal de Viçosa. 1997.

CASA, R.T. **Sobrevivência de *Stenocarpella maydis* e *S. macrospora* em restos culturais de milho**. 2000. 120f. (Tese Doutorado). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG. 2000.

CASA, R.T., REIS, E.M., ZAMBOLIM, L. Dispersão vertical e horizontal de conídios de *Stenocarpella macrospora* e *Stenocarpella maydis*. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, n.2 Brasília, 2004.

CASA, R.T., REIS, E.M.; ZAMBOLIM, L. Doenças do milho causadas por fungos do Gênero *Stenocarpella*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.31, p.427-439, 2006.

CASA, R.T. et al. Incidência de podridões do colmo, grãos ardidos e rendimento de grãos em híbridos de milho submetidos ao aumento na densidade de plantas. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.33, n.4, p.353-357, 2007.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. (Brasil) **Indicadores da Agropecuária**. 2010. Disponível em:<[http: www.conab.com.br](http://www.conab.com.br)>. Acesso em: 5 jan. 2010.

CUTLER, H.G. et al. Diplodiol: a new toxin from *Diplodia macrospora*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Washington. v. 28, p. 135-138. 1980.

DEL RIO, L. Maiz muerto en Honduras provocado por el complejo *Diplodia* y *Fusarium*. **Manejo Integrado de Plagas** v.18, p.42-53, 1990.

DEL RIO, L. ZUNIGA, T.; TORRES, J. Evaluation de métodos e fechas de inoculation de *Stenocarpella maydis* (Berk) a diferentes concentraciones. **Ceiba**, Honduras. v. 32, p.151-160, 1991.

DEL RIO, L.; MELARA, W. Dispersion de *Stenocarpella maydis* (Berk.) Sutton en un cultivo de maiz. **Ceiba**, Honduras. v.32, p.133-140, 1991.

DORRANCE, A.E., HINKELMANN, K.H.; WARREN, H.L. Diallel analysis of diplodia ear rot resistance in maize. **Plant Disease**, Saint Paul, v.82, p. 699-703, 1998.

FLETT, B. C., MCLAREN, N. W., WEHNER, F. C. Incidence of *Stenocarpella maydis* ear rot of corn in GA crop rotation systems. **Plant Disease**, Saint Paul, v.85, p.92-94, 2001.

FOLEY, D.C. & WERNHAM, C.C. The effect of fertilizers on stalk rot of corn in Pennsylvania. **Phytopathology**, East Lansing. v.42. p.11-12. 1957.

PINTO, N.F.J.A. Podridão branca da Espiga de milho. Brasília,. EMBRAPA. 2006. (**Comunicado Técnico** n. 141)

GUTIERREZ, H. **Mapeamento de QTL's para resistência a grãos ardidos causados por *Diplodia* (*Stenocarpella* SP.) em milho (*Zea mays* L.).** 2008. (Dissertação Mestrado). Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, MG. 2008.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <http://web.ibge.gov.br/estatistica/indicadores/agropecuaria>. Acesso em: 5 jan. 2010.

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

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

KIMATI, Y.; BERGAMIN FILHO, A. Princípios gerais de controle. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Ceres, 2005. v. 2. 774p.

LATTERELL, F.M.; ROSSI, A.E. *Stenocarpella macrospora* (= *Diplodia macrospora*) and *S. maydis* (= *D. maydis*) compared as pathogens of corn. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 67, p. 725-729, 1983.

LEILANI, A.R. et al. QTL Mapping for *Fusarium* and Fumonisin Contamination Resistance in two Maize Populations **Crop Science**, Madison. v.46, p. 1734-1743, 2006.

LI ZICHAO, L. et al. QTL mapping of root traits in a doubled haploid population from a cross between upland and lowland japonica rice in three environments. **TAG Theoretical and Applied Genetics**, Stuttgart. v. 110, no. 7, p.1244-1252, 2005.

LIAKET, M. et al. **Molecular Mapping of QTLs for resistance to Giberella ear rot, in corn, caused by *Fusarium graminearum***. (2005) Genome. Canada. Disponível em: <http://genome.nrc.ca>. Acesso em: 5 dez. 2010.

KOEHLER, B. Ratings of some yellow corn inbreds for eart-rot resistance. **Plant Disease Reporter**, Saint Paul. v.37, p.440-444, 1953.

MACDONALD, M. V., CHAPMAN, R. The incidence of *Fusarium moniliforme* on maize from Central America, Africa and Asia during 1992-1995. **Plant Pathology**, Saint Paul, v.46, n 1, p. 112-125(14), fev., 1997

MARIO, J. L.; REIS, E. M. Avaliação da resistência à mancha foliar de *Diplodia macrospora* em genótipos de milho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília.v.22, p. 280. 1997.

MARIO, J.L. **Comparação de métodos de inoculação de *Diplodia maydis* em espigas de milho e reação de híbridos em condições de infecção natural de *D. macrospora***. 80 f. 1998. (Dissertação Mestrado). Universidade de Passo Fundo. 1998. Passo Fundo, 1998.

MARIO, J.; REIS, E.M.; JULIATTI, F.C. Three inoculation methods for screening corn germplasm to white ear rot resistance. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v.36, p.6. 2011.

MARIO, J.L.; REIS, E.M. Método simples para diferenciar *Diplodia macrospora* de *D. maydis* em testes de patologia de sementes de milho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília. v.26, n. 3, p. 670-672, 2001.

MARIO, J.L.; REIS, E.M. Quantificação do inóculo de *Diplodia macrospora* e de *D. maydis* em restos culturais, no ar e sua relação com a infecção em grãos de milho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília. v. 28, n. 2, p.143-147, 2003.

MORANT, M. A., WARREN, H. L.; VON QUALEN, S.K . A synthetic medium for mass production of picnidiospores of *Stenocarpella* sp. **Plant Disease**, Saint Paul. v.77, p.424-426, 1993.

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

OLATINWO R., et al. Inheritance of resistance to *Stenocarpella macrospora* (Earle) ear rot of maize in the mid-altitude zone of Nigeria. **European Journal of Plant Pathology**, v.105, p.535–543, 1999.

PADILLA, J. L. R., OCAMPO, E. S. R, PINEDA, A. C. L. Estimacion de las perdidas provocadas por la pudricion de la mazorca de maiz en Taulabe, Comayagua. **Ceiba**, Honduras. v.3, p.9-14, 1990.

PANDEY, C.H.; KNAPP. E.B. Variabilidade genética do milho e adaptação de diferentes condições de estresses. In: Simpósio Internacional sobre Estresse Ambiental. O milho em Perspectiva. 1, 1992; Belo Horizonte. **Resumos...** Belo Horizonte. 1992. p. 34.

PEREZ-BRITO D., JEFFERS D., GONZALEZ D, KHAIRALLAH, M., CORTEZ C.M., VELAZQUEZ G.C. AZPIROZ S, SRINIVASAN, G. QTL mapping of *Fusarium moniliforme* Ear Rot Resistance in Highland Maize, **Agrociencia**, Mexico. v. 35, p. 181-196, 2001.

PINGALI, P.L. (Ed.). CIMMYT 1999–2000 World Maize Facts and Trends. In: MEETING WORLD MAIZE NEEDS: Technological opportunities and priorities for the public sector, 2001. Mexico, D.F.: CIMMYT. Proceedings. 2001.

PASCUAL, C.B., GUZMAN, P.S. SALAZAR, A.M. Reaction of maize germplasm to *Stenocarpella macrospora* (Earle) infection and effect of resistance to disease development. In: INTERNATIONAL PLANT BREEDING SYMPOSIUM. **Book of abstract**, Mexico. p.150. 2006.

REIS, E.M.; CASA, R.T.; BIANCHIN, V. Controle de doenças de plantas pela rotação de culturas. **Summa Phytopathologica**, Botucatu. v.37, n.3, p.85-91, 2011.

ROSSOUW, JD, VAN RENSBURG J.B.J & VAN DEVENTER, C.S. Breeding for resistance to ear rot of maize, caused by *Stenocarpella maydis* (Berk).Sutton. 1. Evaluation of selection criteria. **S.Afr Journal of Plant and Soil**, Bethlehem. v.19, nº 4. p.182-187, 2002a.

ROSSOUW, JD, VAN RENSBURG J.B.J; VAN DEVENTER, C.S. Breeding for resistance to ear rot of maize, caused by *Stenocarpella maydis* (Berk)Sutton. 2. Inheritance of Resistance. **S.Afr Journal of Plant and Soil**, Bethlehem. v.19, nº.4, p.188-194, 2002b.

Silva AR, Juliatti FC, Brito CH, Gomes LS. Métodos de inoculação de *Stenocarpella maydis* em três populações de milho. **Summa Phytopathologica**, v.31, p.79-83, 2005.

SHURTLEFF, M.C. A compendium of corn diseases. **American Phytopathological Society**. Saint Paul, 105p. 1992.

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

ULLSTRUP, A.J. Observations on two ephiphytotics of Diplodia ear rot of corn in Indiana. **Plant Disease**, Saint Paul. 48:414-415. 1964.

WISER, W.J., KRAMER, H.H. & ULLSTRUP, A.J. Evaluating inbred lines of maize for resistance to Diplodia ear rot. **Agric. J.** v.11, p.624-626, 1960.

WOLOSHUK, C.; WISE, K. Diplodia Ear Rot. Purdue University, West Lafayette. 2008.

Capítulo Único

**Reação de Híbridos de Milho à Podridão dos Grãos Causada por
Stenocarpella macrospora e *Stenocarpella maydis*, em Diferentes
Ambientes do Brasil**

**Reação de Híbridos de Milho à Podridão dos Grãos causada por
Stenocarpella macrospora e *Stenocarpella maydis*, em diferentes
ambientes do Brasil.**

Justino I. Mario¹, Fernando C. Juliatti²

¹ Monsanto do Brasil Ltda, Rod. BR452 – Km 149. Uberlândia MG, Brasil

² Prof. PhD – Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia MG, Brasil
E-mail: Justino.l.mario@monsanto.com

¹Autor correspondente: Justino Luiz Mario (Justino.l.mario@monsanto.com)

Palavras chaves: Híbridos. *Stenocarpella*. Grãos Ardidos. Duplo-haplóide

RESUMO

Neste trabalho, avaliou-se a reação de 140 híbridos de milho provenientes de uma linhagem duplo-haplóide derivada do cruzamento, entre uma linhagem resistente e uma linhagem suscetível, cruzada com uma linhagem convencional suscetível. Os híbridos quais foram inoculados com *Stenocarpella maydis* (Berkeley) Sacc e *Stenocarpella macrospora* (Earle) sendo avaliados em três locais no Triângulo Mineiro e Três locais no Sul do Brasil. O objetivo foi identificar genótipos resistentes à *S. macrospora* e *S. maydis* e a sua quantificação nas duas regiões. Efetuou-se duas análises conjuntas, uma com os três locais do Triângulo Mineiro e outra com três locais do Sul verificar a reação dos híbridos quanto a resistência à grãos ardidos. Na incidência de grãos ardidos obtidos dos híbridos, realizou-se a quantificação de *S. macrospora*, *S. maydis* e outros fungos, para o Triângulo Mineiro e Sul. Na análise conjunta do Triângulo Mineiro ocorreu uma frequência de 60% de *S. macrospora*, 10% de *S. maydis* e 30% de outros fungos. A análise conjunta dos dados do Sul obteve-se 20% de *S. macrospora*, 11% de *S. maydis* e 69% de outros fungos. A interação híbrido patógeno mostrou a prevalência da *S. macrospora* na incidência dos grãos infectados, com 60% no Triângulo Mineiro e de 20% no Sul e *S. maydis* com 10% no Triângulo Mineiro e 11% no Sul do Brasil. Esses resultados mostram que existem diferenças entre os dois locais, quanto à reação à podridão de grãos de milho causado por *S. macrospora* e *S. maydis*. Com isso pode-se direcionar os programas de melhoramento no patossistema *Stenocarpella*-milho.

Palavras chaves: Híbridos. *Stenocarpella*. Grãos Ardidos. Duplo-haplóide.

ABSTRACT

This work evaluated the reaction of 140 corn hybrids from double-haploid inbred derived from a crossing of a resistant inbred line with and susceptible inbred line. Being that, crossed with a conventional susceptible line which were inoculated with *Stenocarpella maydis* and *Stenocarpella macrospora*. The hybrids were assessed in three locations in the Miner Triangle and three locations in Southern Brazil to evaluate the difference of hybrids reaction to *S. macrospora* and *S. maydis*.

Two analysis were performed, one of the three locations in the Miner Triangle and one of the three locations in the South for the separation of five resistant hybrids, five average resistance and five susceptible to rot grain for the two locations. About the incidence of rot grain obtained from the hybrids, the quantification of *S. macrospora*, *S. maydis* and other fungi were done in the laboratory for the Miner Triangle and South of Brazil. In a joint analysis in the Miner Triangle it was found a frequency of 60% *S. macrospora*, 10% *S. maydis* and 30% other fungi. And in a joint analysis of South Brazil found 20% *S. macrospora*, 11% *S. maydis* and 69% of other fungi. The pathogen hybrid interaction showed the prevalence of *S. macrospora* in incidence of infected grains, with 60% in the Miner Triangle and 20% in the South, against *S. maydis* with 10% in the Miner Triangle and 11% in south of Brazil. These results showed that there were differences between the two places regarding the rotten grain caused by *S. macrospora* and *S. maydis*. Thus, positioning breeding programs in the pathosystem *Stenocarpella*-corn.

Keywords: Hybrids. *Stenocarpella*. Damage grains Double-haploids.

3 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é a segunda cultura em importância econômica e em área cultivada, no mundo, e é cultivado em todos os estados brasileiros em mais de 12 milhões de ha, com uma produção estimada em 50,1 milhões de toneladas em 2009/10 (CONAB, 2010; IBGE, 2010).

As doenças do milho ocorrem praticamente em todos os locais onde o cereal é cultivado (SHURTLEFF, 1992). Os fungos *Stenocarpella maydis* (Berk.) Sacc., *S. macrospora* Earle e *Fusarium verticillioides* Sheld e *F. graminearum* (Schw) são os principais agentes causadores de podridões do colmo e da espiga, originando os chamados "grãos ardidos", que reduzem o rendimento e depreciam a qualidade do produto (EDDINS, 1930; DORRANCE et al., 1998; ROSSOUW et al., 2002a; CASA et al., 2006; PINTO, 2006; GUTIERREZ, 2008).

Os fungos *S. macrospora* e *S. maydis* apresentam no campo, somente a forma imperfeita ou assexuada, e podem causar podridão do colmo, da espiga e mancha foliar (CASA et al., 2006). As condições climáticas da região Sul, no verão, com dias quentes (25 a 27 °C) e noites amenas (12 a 15 °C), são favoráveis ao desenvolvimento de doenças incitadas por *S. maydis* (PEREIRA, 1995). Quando a umidade relativa do ar é menor que 50% *S. macrospora* produz mais micélio e cresce mais rápido que a *S. maydis*, podendo atacar a planta em qualquer estágio fenológico (DEL RIO, 1990).

Na espiga, os sintomas iniciam, principalmente, na base logo após a fecundação e quando a infecção ocorre duas semanas após a polinização, toda a espiga pode tornar-se podre, apresentando coloração pardo-cinza a esbranquiçada. Os grãos infectados apresentam cor cinza fosco a marrom e picnídios negros podem formar-se sobre a palha, brácteas florais, sabugo e grãos (CASA et al., 2006, PINTO, 2006; WOLOSHUK, WISE, 2008).

Para (DORRANCE et al, 1998; ROSSOUW et al., 2002a, RENSBURG et al., 2003) existem diferenças de comportamento entre híbridos quanto à resistência à podridão da espiga causada por *Stenocarpella* spp. Como foram detectados com efeitos significativos para interação genótipo e ambiente, os autores concluíram sobre a necessidade de conduzir avaliações numa ampla

gama de ambientes. Nos últimos anos, as doenças de espiga estão preocupando os produtores, pela exigência das indústrias em adquirir matéria-prima de melhor qualidade.

Este trabalho teve por objetivos: Identificar híbridos de milho com resistência e suscetibilidade quanto à reação de *S. maydis* e *S. macrospora*, demonstrar a prevalência desses patógenos no Triângulo Mineiro e no sul do Brasil e com isso, prover informações os programas de melhoramento no patossistema estudado *Stenocarpella*-milho.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Síntese dos híbridos, ambientes e protocolo de avaliação

Os híbridos do presente estudo resultaram do cruzamento entre duas linhagens endogâmicas contrastantes para sua reação à podridão de espiga por *Stenocarpella* spp., MLR1 (resistente) e MLS1 (susceptível). Com o intuito de incrementar o poder de identificação da segregação dos híbridos.

Cento quarenta linhagens duplo-haplóides foram geradas mediante uso de um indutor de frequência de haploidismo em combinação com o posterior tratamento colchicina para induzir o duplo-haploidismo. Essas linhagens foram cruzadas com uma linhagem testadora susceptível (MLS4) e não relacionada aos parentais dos híbridos para gerar igual número de cruzamentos de prova ou “*cruzamento teste*”.

A duplicação cromossômica foi realizada no Laboratório de duplo-haplóide da Monsanto do Brasil em Uberlândia. As sementes selecionadas foram imersas em solução de colchicina 0,06% e dimetilsulfóxido 0,5% (DMSO) por 12 horas no escuro (DEIMLING, 1997) e mantidas em temperatura ambiente. Após a duplicação, as plântulas foram lavadas por 20 minutos em água corrente e então, levadas para casa de vegetação

Os híbridos resultantes foram avaliados durante a safra agrícola de 2006/07 na região do Triângulo Mineiro e no Sul do Brasil, no total de seis ambientes. No Triângulo Mineiro foram conduzidos no estado de Minas Gerais na localidade de Iraí de Minas (IM), na fazenda experimental da Monsanto em Uberlândia/Cedo (UBE) e Uberlândia/Tarde (UBL). No Sul, os ensaios foram conduzidos no estado do Paraná nas localidades de Pinhão (Pin) e Vitória (Vit) e em Santa Catarina em Abelardo Luz (AL). Para a seleção destes ambientes, foram considerados principalmente os históricos de incidência de podridão de espiga do programa de pesquisa da Monsanto, o uso de plantio direto por ciclos consecutivos como prática comum e o nível de produtividade obtido como sendo representativo de regiões amostradas.

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos ao acaso com duas repetições por ambiente. A unidade experimental consistiu-se de duas linhas de 5

metros e espaçadas de 70 cm. A densidade de plantas foi de 70.000 plantas por hectare no Triângulo Mineiro e de 75.000 no Sul. O plantio e a colheita foram realizados mecanicamente. No plantio a fórmula de adubação utilizada foi de 185-80-100 kg ha⁻¹ (N-P-K) em duas aplicações, a primeira ao momento da semeadura na qual foram aplicadas 50-80-100 kg ha⁻¹ de N-P-K e o restante do nitrogênio aos 30 dias após do plantio. Para o controle de plantas daninhas se utilizou uma dose de 3 L ha⁻¹ da mistura dos herbicidas atrazina (200 g L⁻¹) e metalacloro (200 g L⁻¹).

As variáveis analisadas foram população final, produção de grãos (tonelada ha⁻¹) e teor de umidade (%) e no momento da colheita foi tomada uma amostra de aproximadamente 300g de grãos para estimar a percentual de podridão de grão e realizar a identificação dos patógenos envolvidos através do método de papel de filtro.

4.2 Origem dos isolados e isolamento

Os isolados utilizado para as inoculações artificiais foi proveniente da Estação Experimental da Monsanto de Uberlândia-MG. O isolamento foi realizado no próprio laboratório de Fitopatologia em sementes de milho infectadas com *Stenocarpella maydis* e *Stenocarpella macrospora*.

Grãos com sintomas típicos da doença foram colocados numa câmara úmida (sete dias a 25 ° C e 95% de umidade relativa), para estimular a formação de picnídios. Com o auxílio de um microscópio estereoscópico e uma agulha histológica, um picnídio foi isolado do grão e colocado sobre uma gota de água e coberta com uma lâmina. Os conídios foram examinados para identificação de espécies. Uma vez que as espécies foram identificadas, os conídios são transferidos em uma gota (Aprox. 1,0 ml) de água destilada estéril colocado uma placa de Petri contendo batata-dextrose-agar (PDA) e espalhado sobre a superfície do substrato. As placas foram incubadas por três dias a 23 a 27 ° C, as colônias foram transferidos para placas de Petri com novos PDA e incubadas durante por mais 3-4 dias a 25 ° C.

4.3 Preparação do inóculo

Cem gramas de grãos de sorgo foram lavados em água comum em um Erlenmeyer de 1L. Os grãos lavados foram colocados em 125 ml de água destilada cerca de 12 horas, sendo a água não absorvida pelos grãos descartada. Depois disso, o substrato foi autoclavado a 125 ° C durante 20 minutos, cuja a operação foi repetida duas vezes. Cinco discos de 5,0 mm de diâmetro de colônia de *Stenocarpella* foram transferidos no substrato de sorgo. Os frascos foram incubados a 25 ° C até que uma massa de esporos formou-se em torno dos grãos, e em seguida foram mantidos em um agitador durante cinco dias até a distribuição uniforme.

O inóculo do frasco foi suspenso em 250 mL de água destilada, agitou-se durante 30 minutos, e transferiu para um outro frasco por filtração através de um suporte com funil de plástico com cinco camadas de gaze. Concentrações de conídios foram contadas numa câmara de Neubauer e a suspensão foi ajustado para 4×10^4 conídios mL^{-1} (MARIO *et al.*, 2011).

4.4 Inoculação das plantas

A inoculação artificial foi realizada em toda parcela experimental pela deposição do inóculo, que consistiu em verter uma suspensão de esporos de *Stenocarpella macrospora* e *S. maydis* entre brácteas florais sobre o pedúnculo da espiga, com o auxílio de uma seringa dosadora automática. Depositando-se 5 mL por espiga de uma suspensão com 4×10^4 conídios mL^{-1} de cada espécie fúngica, com dez a quinze dias após ter atingido 100% da floração feminina das plantas, conforme Mario (1998) e Silva *et al.* (2005)

Esse método, além da praticidade e eficiência, é menos influenciado pelas oscilações climáticas quando comparado com a infestação natural ou com o método de inoculação por aspersão. O método permitiu diferenciar os genótipos resistentes dos suscetíveis da podridão branca da base da espiga de milho incitada por *Stenocarpella* spp. Também simula a inoculação natural, sem causar injúrias que dificultem a seleção como o método de palito-de-dente colonizado (BENSCH *et al.*, 1992; MARIO, 1998; SILVA *et al.*, 2005).

4.5 Obtenção da amostra e análise dos dados

A colheita foi efetuada quando o grão atingiu teor de umidade de 18-24%. Se cada parcela colhida foi formada uma amostra de grãos com peso ao redor de 300g. Posteriormente os grãos foram separados manualmente e classificadas em duas categorias: 1) grãos não infectados; 2) grãos infectados, também chamados de grãos ardidos (GA). As amostras dos grãos infectados foram levados para análise sanitária com o intuito de separar *S. macrospora* de *S. maydis* e outros fungos.

A identificação de *S. macrospora* e de *S. maydis*, nos grãos infectados na análise laboratorial, foi efetuada pela diferença de coloração das colônias conforme figura abaixo, método de papel filtro Mario e Reis (2001), incubando-se em câmara de crescimento regulada a 25 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas. Assim obteve-se o porcentual de ambos os patógenos, no Triângulo Mineiro e sul do Brasil.



a) *S. maydis* possui micélio de coloração mais escura

b) *S. macrospora* possui micélio de coloração bege mais clara

4.6 Análise da variância

A distribuição e caracterização da incidência de grãos ardidos nos híbridos em estudo foram avaliadas por meio de estatísticas descritivas e histogramas. Para estimação da incidência média de grãos ardidos e componentes genéticos, adotou-se o modelo de análise (SAS, Institute Inc, vs 9.2), em blocos casualizados completos:

$$y_{ij} = \mu + b_j + t_i + e_{ij}$$

em que:

y_{ij} é o valor observado na repetição j do test-cross i ;

μ é uma constante inerente a todas as observações

b_j é o efeito aleatório do local j , $b_j \sim N(0, \sigma_b^2)$

t_i é o efeito do test-cross i $t_i \sim N(0, \sigma_t^2)$;

e_{ij} é o erro aleatório associado à observação y_{ij} , $e_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$.

Os componentes de variância genética, residual e fenotípica foram estimadas pelo método dos momentos, pela solução das equações obtidas igualando-se as esperanças matemáticas dos quadrados médios da análise da variância aos seus valores observados, sendo estes determinados por:

Componente de variância genética: $\hat{\sigma}_g^2 = \frac{Q - M}{r}$;

Componente de variância residual: $\hat{\sigma}_r^2 = Q - M$

Componente de variância fenotípica: $\hat{\sigma}_f^2 = \hat{\sigma}_g^2 + \frac{\hat{\sigma}_r^2}{r}$;

Herdabilidade: $\hat{h}^2 = \frac{\hat{\sigma}_g^2}{\hat{\sigma}_f^2}$;

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análise fenotípica

Os valores observados para porcentagem de incidência de podridão de grãos, causada por *Sternocarpella* spp. (GA) (Tabela 1) variaram de 0 a 36,1% nas localidades individuais do Triângulo Mineiro e de 0,3 a 27,2% , nas localidades do sul, com uma média de 6,55%.

No Triângulo Mineiro a localidade de Uberlândia/Tarde apresentou a incidência média de grãos ardidos (GA) com uma média de 1,78%, e Uberlândia/cedo o maior 11,18%, enquanto que Iraí de Minas foi intermediário com 5,18%.

No sul a localidade de Pinhão apresentou o menor nível de interação GA com média de 5,61%, Abelardo Luz e Pinhão com médias similares 6,94% e 7,7, respectivamente, embora Abelardo Luz tenha apresentado maior intervalo com valores de 0,3 a 27,2% (Tabela 1). Esses resultados estão alinhados com os estudos realizados e que reportaram a natureza variável da expressão fenotípica da resistência para podridão de grão por *Stenocarpella* spp. (DORRANCE et al., 1998, RUSSOUW et al., 2002b; GUTIERREZ, 2008).

Tabela 1. Estatísticas descritivas da porcentagem da incidência de grãos ardidos causados por *Stenocarpella* spp. nos 140 híbridos duplo-haplóides para cada localidade através dos ambientes avaliados na região Central e Sul do Brasil durante a Safra agrícola 2006/07.

	Localidade	Média	Intervalo		SD
			Min	Max	
Triângulo Mineiro	Iraí de Minas	5,18	0,30	25,60	3,45
	Uberlândia Cedo	11,18	2,40	36,10	4,37
	Uberlândia Tarde	2,62	0,00	10,00	1,78
Sul	Abelardo Luz	6,94	0,30	27,20	3,81
	Pinhão	5,61	0,80	14,60	2,05
	Vitória	7,77	1,60	18,50	2,91
	Conjunta	6,55	0,00	36,10	4,13

SD = Desvio Padrão

Observa-se no quadro de análise de variância (Tabela 2) diferenças significativas para o efeito de cruzamento teste (híbridos), na análise conjunta Triângulo Mineiro, e na análise conjunta Sul, o que indica a existência de variância genética significativamente positiva entre os híbridos derivadas do cruzamento MLR1/MLS1, tanto no Triângulo Mineiro como no Sul.

Os coeficientes de herdabilidade para GA foi de 0,46 para o Triângulo Mineiro a 0,43 para o Sul. Assim pode-se concluir que das três localidades avaliadas, no Triângulo Mineiro e do Sul, são similares, para a seleção e discriminação entre as progênies (híbridos), com uma tendência melhor de expressão da doença para o Triângulo Mineiro.

Tabela 2. Análise de variância conjunta, para porcentagem de grãos ardidos por *Stenocarpella* spp. na avaliação de três localidades no Triângulo Mineiro e no Sul do Brasil, na Safra agrícola 2006/07.

Triângulo Mineiro					
FV	GL	SQ	QM	F	P_valor
Local	2	11114,8828	5473,3691	496,7767	0,0000
Rep(Local)	3	383,0935	127,6978	13,5837	0,0000
Genótipos	142	2658,8891	18,7246	1,6995	0,0001
Cruzamentos teste (Ct)	139	2541,8546	18,2867	1,6575	0,0002
Testemunhas (T)	3	115,3900	38,4633	2,3046	0,3169
Ct vs Testemunhas	1	1,6445	1,6445	0,5036	0,5515
Genótipos X Local	282	3107,0100	11,0178	1,1720	0,0698
Ct x Local	278	3067,0984	11,0327	1,1736	0,0688
Testemunhas x Local	2	33,3800	16,6900	1,7754	0,1707
Ct vs T) xLocal	2	6,5316	3,2658	0,3474	0,7067
Residuo	429	3576,9590	9,4008		
CV	49,78				
Média	6,32				
Média das testemunhas	6,58				
Média dos Ct	6,31				
Variância residual	9,4008				
Variância genética	1,2090				
Variância gxl	0,8085				
Variância fenotípica	3,0478				
Herdabilidade	0,3967				

Sul					
FV	GL	SQ	QM	F	P_valor
Local	2	657,0210	328,5105	38,6403	0,0000
Rep(Local)	3	174,1191	58,0396	7,9985	0,0003
Genótipos	142	2013,7422	14,1813	1,6680	0,0002
Cruzamentos teste (Ct)	139	1977,5886	14,2273	1,6793	0,0001
Testemunhas (T)	3	35,8850	11,9617	1,1168	0,5045
Ct vs Testemunhas	1	0,2686	0,2686	0,0257	0,8873
Genótipos X Local	282	2397,4940	8,5018	1,1716	0,0701
Ct x Local	278	2355,2002	8,4719	1,1675	0,0754
Testemunhas x Local	2	21,4217	10,7108	1,4761	0,2297
(Ct vs T) xLocal	2	20,8721	10,4361	1,4382	0,2385
Residuo	429	3112,9559	7,2563		
CV	41,87				
Média	6,77				
Média das testemunhas	6,47				
Média dos Ct	6,78				
Variância residual	7,2563				
Variância genética	0,9592				
Variância gxl	0,6227				
Variância fenotípica	2,3712				
Herdabilidade	0,4045				

ROSSOUW et al. (2002b) e RENSBURG et al. (2003) reportaram também diferenças significativas entre genótipos e ambiente, confirmando o efeito diferencial das localidades na expressão da podridão grãos causada por *S. maydis*, em seus trabalhos realizados em três localidades da África do Sul com intervalo nas médias de incidência de 3.4% a 25%, para GA.

Na Tabela (3) observa-se que na análise conjunta do Triângulo Mineiro foram separados cinco híbridos com alta incidência de grãos ardidos (GA): MH128, MH77, MH89, MH48 e MH55, cinco com incidência média, MH05, MH83, MH103, MH70 e MH35, e cinco com incidência baixa, a saber: MH41, MH106, MH134, MH09 e MH02. Esses híbridos também foram analisados em laboratório, as amostras dos grãos infectados, provenientes das localidades do Sul.

Assim, procedeu-se da mesma maneira para separar os híbridos na análise conjunta do Sul (ACS), os cinco híbridos com alta incidência: MH89, MH95, MH38, MH125 e MH96, os cinco com média, MH111, MH87, MH104, MH39 e MH84, e os cinco com baixa incidência, MH133, MH52, MH112, MH41 e

MH02. Também, esses híbridos foram analisados em laboratório os grãos infectados, provenientes das localidades do Triângulo Mineiro.

Na análise de médias para GA mostrou-se consistente por meio de localidades, pelos valores fenotípicos expressos nos indivíduos, conforme demonstrado na (Tabela 3), possibilitando assim a identificação de progênies duplo-haplóides altamente resistentes para a podridão de grão por *Stenocarpella* spp.

Tabela 3. Incidência de podridão de grãos (GA) para os cruzamentos teste selecionados entre as progênies duplo-haplóides resultado do cruzamento entre MLR1 (progenitor resistente) e MLS1 (progenitor suscetível) pelo testador susceptível MLS4 em comparação com as testemunhas, na análise conjunta, do Triângulo Mineiro e Sul do Brasil.

Conjunta Triângulo Mineiro			Conjunta Sul		
Híbridos	% GA Triângulo Mineiro	%GA Sul	Híbridos	%GA Sul	% GA Triângulo Mineiro
Alta Incidência					
MH-128	13,16	8,24	MH-89	14,25	11,5
MH-77	12,71	8,11	MH-95	11,42	5,71
MH-89	11,50	14,25	MH-38	10,85	7,41
MH-48	9,58	7,20	MH-125	10,74	5,72
MH-55	9,52	5,28	MH-96	10,16	8,31
Média	11,29	8,62	Média	11,48	7,73
Média					
MH-05	6,35	6,89	MH-111	6,87	5,24
MH-83	6,27	8,11	MH-87	6,79	7,06
MH-103	6,27	8,07	MH-104	6,71	7,50
MH-70	6,26	7,68	MH-39	6,69	5,35
MH-35	6,25	5,45	MH-84	6,64	8,67
Média	6,28	7,24	Média	6,74	6,76
Baixa					
MH-41	3,36	4,56	MH-133	4,60	5,52
MH-106	3,29	7,15	MH-52	4,60	6,21
MH-134	3,22	5,91	MH-112	4,57	4,79
MH-09	3,17	5,18	MH-41	4,56	3,36
MH-02	3,06	4,06	MH-02	4,06	3,06
Média	3,22	5,37	Média	4,48	4,59
CheckR	2,89			4,40	
CheckS	7,34			7,52	
CV	46,5			42,9	

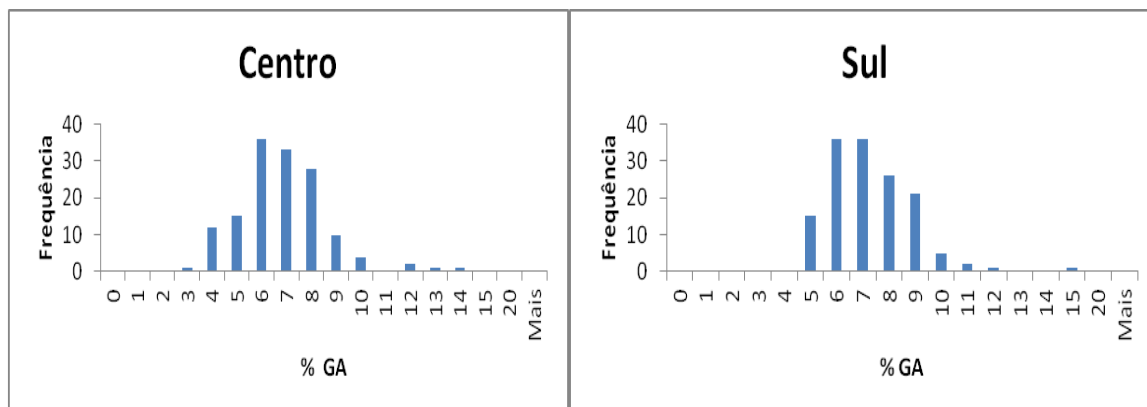
Quando comparados com os valores apresentados pela testemunha resistente, representado pelo híbrido (CheckR), e suscetível pelo híbrido (CheckS). Dois híbridos em particular mostraram valores similares àqueles apresentados pela testemunha resistente, no Triângulo Mineiro e no sul, MH41 e MH02, indicando que há possibilidade de ganhos genéticos na seleção de grãos arditos incitados por *Stenocarpella* sp. Certamente os mesmos servirão como fontes de resistência a *Stenocarpella* spp. nos programas de melhoramento.

Pascual e outros (2006), que reportaram respostas diferenciais à infecção por *Stenocarpella* spp. para mancha foliar e podridão de grãos mediante a inoculação artificial de 300 germoplasmas, salientaram que, quando as condições ambientais forem ideais para a expressão da doença, materiais classificados como sendo resistentes mostraram certo nível de susceptibilidade, com exceção de CML425 que apresentou um nível relativamente estável, de resistência. Tal resultado foi similar ao presente estudo, naquela a testemunha resistente (checkR), mostrou valores relativamente estáveis, tanto para Triângulo Mineiro 2,89% quanto para sul de 4,4%.

Esses resultados são também semelhantes aos obtidos por Thompson e outros (1971) e Trento et al. (2002) que apontam a podridão de espiga como um fator que reduz mais a qualidade e não tanto de produtividade. Afirmam, ainda, os autores que a podridão de espigas não está relacionada com a podridão do colmo, a qual, sim, causa reduções no rendimento. Hoje há uma grande preocupação pela qualidade do produto, pois os dois fungos produzem diferentes toxinas, que podem prejudicar a saúde humana ou de animais, que se alimentam de grãos e derivados, por eles contaminados (PROZESKY et al., 1994; PINTO, 2006).

Os valores da incidência para podridão de grãos por *Stenocarpella* spp. mostraram distribuição contínua conforme apresentado na (Figura 1), indicando a possibilidade de que a resistência para este caráter esteja condicionada por mais de um locus. Esses resultados são consistentes com estudos previamente realizados que reportaram a natureza multigênica da resistência para podridão de grão por *Stenocarpella* spp., (OLATINWO et al., 1999, RENSBURG et al., 2003, GUTIERREZ, 2008).

Figura 1. Distribuição das freqüências de incidência de podridão de grãos causada por *Stenocarpella* spp. (GA) nos cruzamentos teste resultante do cruzamento das progênies duplo-haplóides pelo testador susceptível MLS4.

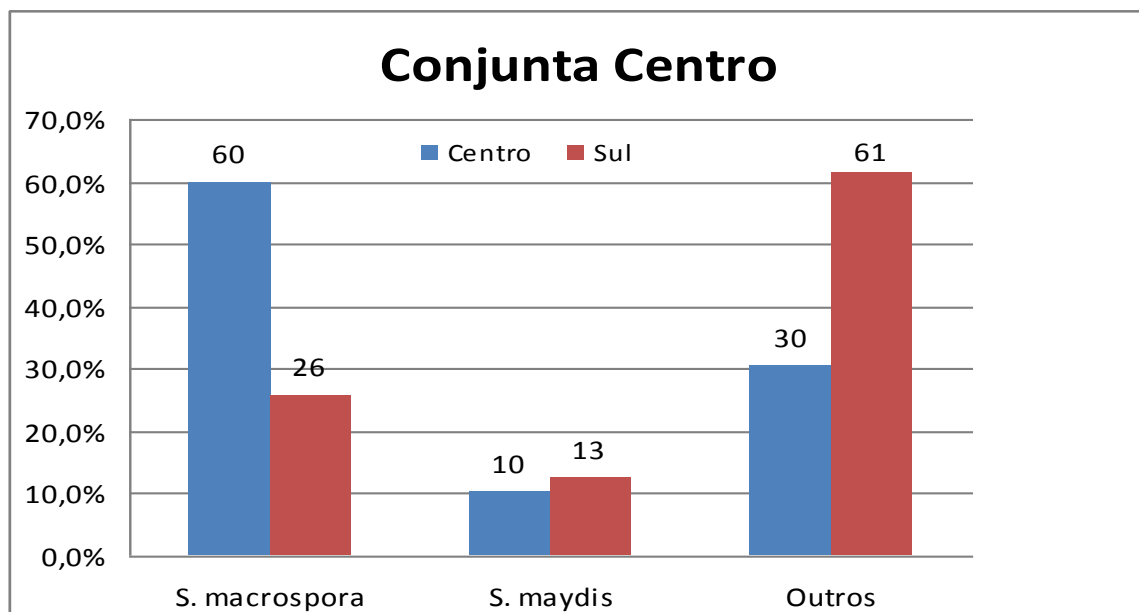


5.2 Análise da incidência de grãos ardidos

Com os resultados da análise conjunta Triângulo Mineiro, classificou-se os híbridos pela incidência de grãos ardidos (GA), e separa-se os cinco primeiros com alta incidência, cinco com média e cinco com baixa incidência (considerados resistentes) (Tabela 3).

Assim, na (Figura2), pode-se observar a incidência nos grãos ardidos (GA), da *Stenocarpella macrospora*, *S. maydis* e dos outros fungos, tanto nas amostras do Triângulo Mineiro, como nas do sul. Nas amostras do Triângulo Mineiro obteve-se percentual de 60% de *S. macrospora*, 10% de *S. maydis* e de 30% de outros fungos. E nas amostras do Sul tem-se 26% de *S. macrospora*, 13% de *S. maydis* e de 61% de outros fungos. Verificou-se a prevalência de *S. macrospora* e comparação *S. maydis*, tanto nas amostras do Triângulo Mineiro, quanto as provenientes do Sul.

Figura 2. Incidência da podridão de espiga causada por *Stenocarpella macrospora* e *S. maydis* e outros fungos, dos híbridos selecionados na análise conjunta Triângulo Mineiro, e também com as amostras provenientes dos três locais do Sul.

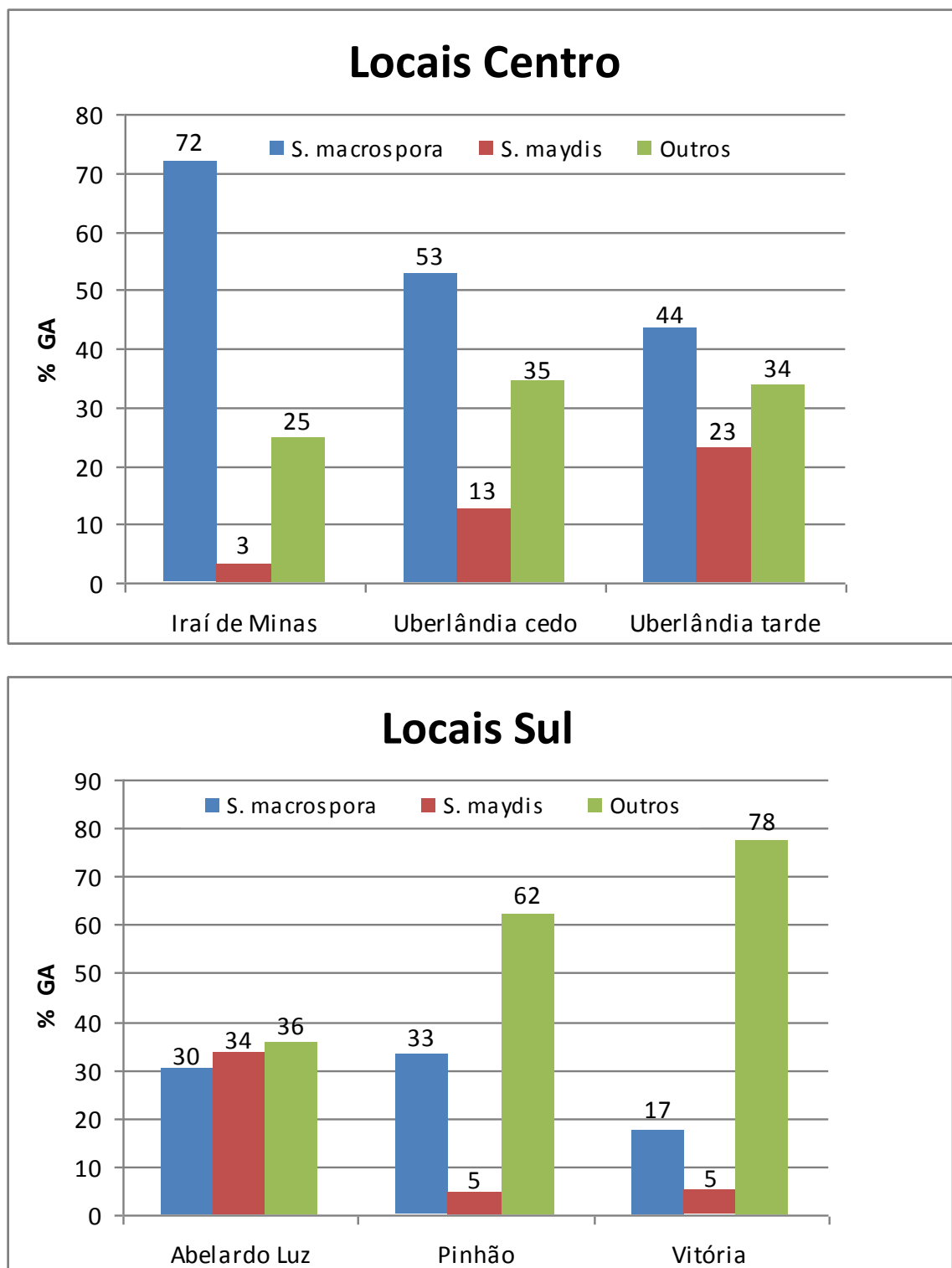


Esses resultados estão de acordo com os reportados por Mario e outros (2003), onde quantificou-se um percentual 3,25% de *S. maydis*, e 12,36% de *S. macrospora*, uma incidência quatro vezes maior, nas análises laboratorial de grãos ardidos, provenientes dos híbridos milho, sem inoculação.

A incidência da cada espécie *Stenocarpella* e dos outros fungos, podem ser observados por cada localidade do Triângulo Mineiro e do sul na (Figura 3). Nas análises laboratoriais de grãos ardidos (GA), provenientes das três localidades do Triângulo Mineiro, Iraí de Minas detectou-se um percentual de 72% de *S. macrospora*, 3% de *S. maydis* e 25% de outros fungos, Uberlândia/cedo obteve 52%, 13% e 35%, e Uberlândia/Tarde obteve 43%, 23% e 34%, respectivamente.

E analisando as amostras provenientes dos locais do Sul, temos Abelardo Luz com 30% de *S. macrospora*, 34% de *S. maydis* e 36% de outros fungos, Pinhão, 33%, 5% e 62%, e Vitória com 17%, 5% e 78%, respectivamente.

Figura 3. Incidência da podridão de grãos (GA) causada por *Stenocarpella macrospora* e *S. maydis* e outros fungos, dos 15 híbridos selecionados na análise conjunta Triângulo Mineiro, com a distribuição nos três locais do Triângulo Mineiro e os mesmo híbridos nos três locais do Sul.



Nas três localidades do Triângulo Mineiro, *S. macrospora* obtiveram-se incidências maiores em grãos ardidos, do que *S. maydis* e os outros fungos.

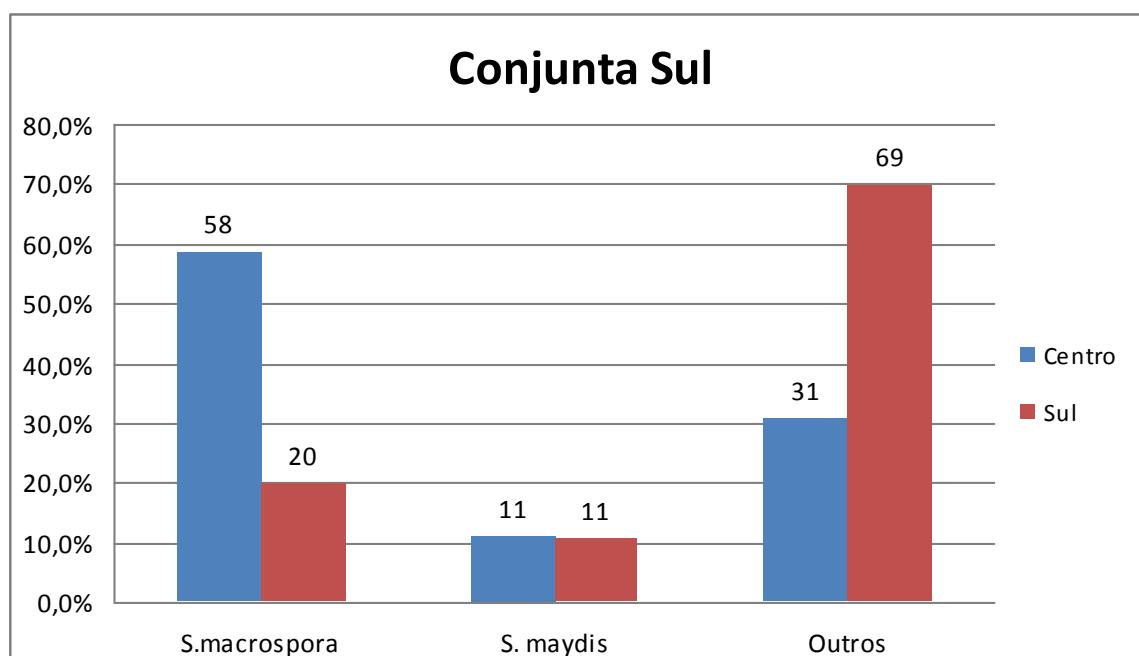
Sendo Iraí de Minas apresentaram o maior valor, 72%, seguido de Uberlândia/Cedo com 52% e Uberlândia/Tarde com 43%.

Nas localidades do Sul o fungo *S. macrospora*, teve maior incidência do que *S. maydis*, nas localidades de Pinhão com 33% e Vitória com 17%, e em Abelardo Luz com 30%, sendo este local, o único em que a incidência de grãos ardidos foi maior na *S. maydis*, com 34%.

Com análise conjunta do Sul, ocorreu os mesmos procedimentos da análise conjunta do Triângulo Mineiro, em relação a separação das amostras dos híbridos. Aqui também os híbridos selecionados na ACS, tiveram as amostra de grãos ardidos, provenientes das localidades do Triângulo Mineiro avaliadas em laboratório.

Na (Figura 4) observar-se o percentual de *S. macrospora*, *S. maydis* e outros fungos, nas amostras de GA, do sul e também, nas amostras dos mesmos híbridos, provenientes do Triângulo Mineiro.

Figura 4. Incidência da podridão de grãos incitada por *Stenocarpella macrospora* e *S. maydis*, dos híbridos selecionados na análise conjunta do Sul, e também com as amostras provenientes dos três locais do Triângulo Mineiro.



Na análise conjunta Sul, obteve-se nas amostras de grãos ardidos, 20% de *S. macrospora*, 11% de *S. maydis* e de 69% de outros fungos, mas quando

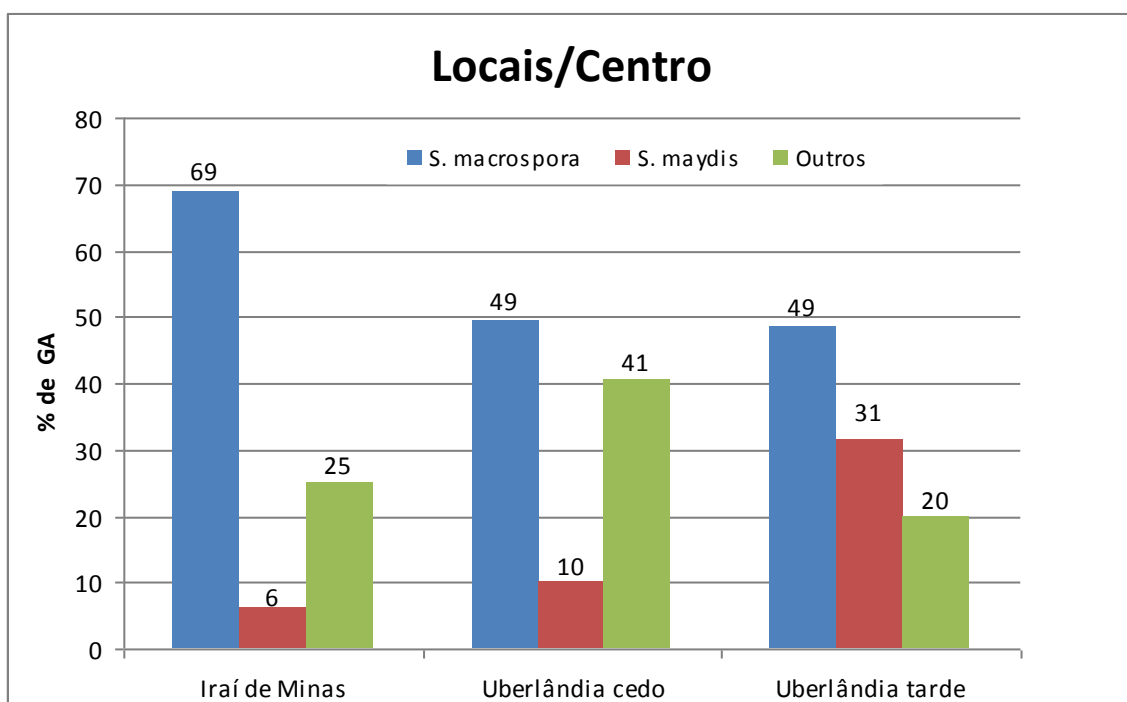
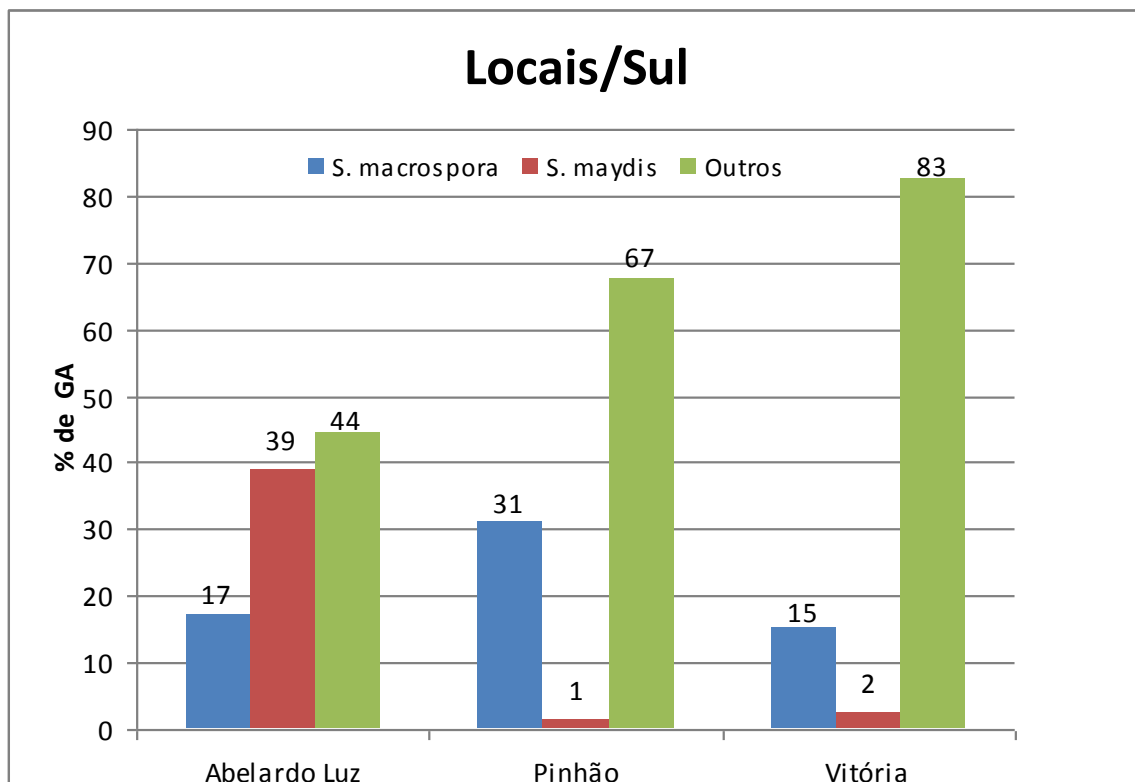
observa-se as amostras provenientes dos locais do Triângulo Mineiro, temos 58% de *S. macrospora*, 11% *S. maydis* e de 31% de outros fungos. Mais uma vez fica evidenciado a prevalência de *S. macrospora*, nas análises das três localidades do Sul e do Triângulo Mineiro.

Essa maior incidência de *S. macrospora* em relação *S. maydis*, nos grãos ardidos, pode ser devido ao fato, de que *S. macrospora*, conseguir infectar as folhas do milho (chamada de mancha de macrospora), e assim, os conídios produzidos nas manchas foliares, estão posicionados próximos do sítio de infecção, que é o pedúnculo da espiga Mario e Reis (2003). Também é reportado por Del Rio (1990), Flett e McLaren (1994), e Casa (2000), que o aumento de intensidade das podridões de espiga e do colmo está relacionado com a densidade de inóculo nas fontes de inóculo, principalmente nas lesões formadas nas folhas.

Pode-se analisar esse percentual por cada localidade, no sul e do Triângulo Mineiro (Figura 5), onde verifica-se que nas localidades do sul, temos em Abelardo Luz, 17% de *S. macrospora*, 39% *S. maydis* e 44% de outros fungos, em Pinhão, 31%, 2% e 67%, e Vitória, 15%, 2% e 83% de outros fungos, respectivamente. Mais uma vez observa-se que Abelardo Luz foi o único local em que *Stenocarpella maydis*, com 34% grãos ardidos apresentou um percentual maior, que *S. macrospora* com 17%.

Na distribuição dos locais do Triângulo Mineiro, temos os seguintes percentuais, Iraí de Minas, 69% de *S. macrospora*, 6% de *S. maydis*, e de 25% de outros fungos, Uberlândia/Cedo, 49%, 10% e 41%, e Uberlândia/Tarde, 49%, 31% e 20%, respectivamente. Novamente observa-se que nas amostras provenientes dos locais do Triângulo Mineiro, ocorre a prevalência de *S. macrospora*, em relação a *S. maydis*, onde temos 72% vs 6%, em Iraí de Minas, 49% vs 10% em Uberlândia/Cedo e 49% vs 31% em Uberlândia/Tarde.

Figura 5. Incidência da podridão de grãos (GA) causada por *Stenocarpella macrospora* e *S. maydis* e outros fungos, nas amostras dos 15 híbridos selecionados na análise conjunta Sul, com a distribuição nos três locais do Sul e do Triângulo Mineiro.



MARIO et. al. (2003), reportaram que embora tenha inoculado *S. maydis* em seis híbridos de milho, nas análises dos grãos ardidos constatou-se incidência de 12,32% de *S. maydis* e 23,15% de *S. macrospora*, uma incidência deste último duas vezes maior. Este estudo mostra a importância de quantificar-se em laboratório a incidência dos patógenos alvo de estudo, nesse caso o patossistema estudado *Stenocarpella*-milho.

6 CONCLUSÕES

- 1) Houve diferença significativa nos locais do Triângulo Mineiro e do sul, quanto a incidência média de grãos ardidos, isso possibilita ganhos genéticos na seleção de híbridos para essa variável.
- 2) Ocorreu prevalência de *Stenocarpella macrospora*, nos três locais do Triângulo Mineiro.
- 3) Na análise conjunta do Triângulo Mineiro e do sul, ocorreu uma maior incidência de *Stenocarpella macrospora*, nos grãos ardidos analisados.
- 4) Abelardo Luz foi o único local, em que *Stenocarpella maydis*, teve maior incidência do que a *S. macrospora*.

REFERÊNCIAS

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

CASA, R.T., REIS, E.M.; ZAMBOLIM, L. 2006. Doenças do milho causadas por fungos do Gênero *Stenocarpella*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília. v.31, p.427-439, 2006.

CASA, R.T. **Sobrevivência de *Stenocarpella maydis* e *S. macrospora* em restos culturais de milho**. 2000. 120f. (Tese Doutorado). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG. 2000.

CONAB. **Indicadores da Agropecuária**. Disponível em: <[http: www.conab.com.br](http://www.conab.com.br)>. Acesso em: 5 jan. 2010.

DEL RIO, L. Maiz muerto en Honduras provocado por el complejo *Diplodia* y *Fusarium*. **Manejo Integrado de Plagas** v.18, p.42-53, 1990.

DEIMLING, S.; ROBER, F.; GEIGER, H. H. Methodik und genetic der in-vivo haploideninduktion bei mais. Votr Pflanzenzuchtung, Berlin, v. 38, p. 203-204, 1997.

DORRANCE, A.E.; HINKELMAN, K.H.; WARREN, H.L. Diallel analysis of Diploida ear rot resistance in maize. **Plant Disease**, Saint Paul, v.82, p.699-703, 1998.

EDDINS, A.H. Dry rot of corn caused by *Diplodia macrospora* Earle. **Phytopathology**, Saint Paul. v.20, p.439-448, 1930.

FLETT, B.C.; McLAREN, N.W. Optimum disease potential for evaluating resistance to *Stenocarpella maydis* ear rot corn hybridis. **Plant Disease**, Saint Paul, v.78: p.587-589, 1994.

GUTIERREZ, H. **Mapeamento de QTL's para resistência a grãos ardidos causados por *Diplodia* (*Stenocarpella* SP.) em milho (*Zea mays* L.).** 2008. (Dissertação Mestrado). Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, MG. 2008.

IBGE. Sítio da Internet do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística Disponível em: <<http://web.ibge.gov.br/estatistica/indicadores/agropecuaria>>. Acesso em: 5 jan. 2010.

PINTO, N.F.J.A. **Podridão Branca da Espiga de milho.** Comunicado Técnico N. 141 EMBRAPA. 2006.

MARIO, J.L. **Comparação de métodos de inoculação de *Diplodia maydis* em espigas de milho e reação de híbridos em condições de infecção natural de *D. macrospora*.** 80 f. 1998. (Dissertação Mestrado). Universidade de Passo Fundo. 1998. Passo Fundo, 1998.

MARIO, J.L.; REIS, E.M. Método simples para diferenciar *Diplodia macrospora* de *D. maydis* em testes de patologia de sementes de milho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília. v. 26, n.3, p. 670-672, 2001.

MARIO, J.L.; REIS, E.M. Quantificação do inóculo de *Diplodia macrospora* e de *D. maydis* em restos culturais, no ar e sua relação com a infecção em grãos de milho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília. v. 28, n.2, p.143-147, 2003.

MARIO, J. L, REIS, E.M.; BONATO, E.M. Reação de híbridos de milho à podridão branca da espiga. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília. v.28, p.155-158, 2003.

OLATINWO R., et al. Inheritance of resistance to *Stenocarpella macrospora* (Earle) ear rot of maize in the mid-altitude zone of Nigeria. **European Journal of Plant Pathology**, v.105, p.535–543, 1999.

PASCUAL, C.B., GUZMAN, P.S.; SALAZAR, A.M., Reaction of maize germplasm to *Stenocarpella macrospora* (Earle) infection and effect of resistance to disease development, International Plant Breeding Symposium. **Book of abstracts**. p. 50. 2006.

PEREIRA, O.A.P. **Situação atual de doenças da cultura do milho no Brasil e estratégias de controle.** In: Resistência Genética de Plantas a Doenças. Piracicaba. Departamento de Genética, Universidade de São Paulo. p. 25-30. 1995.

PROZESKY, L., KELLERMAN, T.S., SWART, D.P. Perinatal mortality in lambs of ewes exposed to cultures of *Diplodia maydis* (= *Stenocarpella maydis*) during gestation. A study of the central-nervous-system lesions. **Journal of Veterinary Research**, v.61, p.247-253, 1994.

ROSSOUW, JD, VAN RENSBURG J.B.J & VAN DEVENTER, C.S. Breeding for resistance to ear rot of maize, caused by *Stenocarpella maydis* (Berk) Sutton. 1. Evaluation of selection criteria. **S.Afr Journal of Plant and Soil**, Bethlehem. v.19, n.4, p.182-187, 2002a.

ROSSOUW, JD, VAN RENSBURG J.B.J & VAN DEVENTER, C.S. Breeding for resistance to ear rot of maize, caused by *Stenocarpella maydis* (Berk) Sutton. 2. Inheritance of Resistance. **S.Afr Journal of Plant and Soil**, Bethlehem. v.1, n.4, p.188-194, 2002b

SHURTLEFF, M.C. A compendium of corn diseases. **American Phytopathological Society**, Saint Paul, 1992. 105p.

SILVA, A.D, JULIATTI, F.C, DE BRITO, C.H, GOMES, S.L. Métodos de inoculação de *Stenocarpella maydis*, em três populações de milho. **Summa Phytopatologica**, Botucatu, v31, n.1, p.82-86, 2005.

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

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

VAN RENSBURG J.B.J, ROSSOUW, J.D, & VAN DEVENTER, C.S. New generation inbred lines resistant to diplodia ear rot, caused by *Stenocarpella maydis* (Berk) Sutton. **S.Afr Journal of Plant and Soil**, Bethlehem. v.20, n.3, p.127-131, 2003.

WOLOSHUK, C.; WISE, K. Diplodia Ear Rot. Purdue University, West Lafayette. 2008.

Anexos

Tabela A1. Características das localidades de avaliação dos cruzamentos teste no estado de Minas Gerais durante a Safra de verão 2006/07.

	Iraí de Minas, MG	Uberlândia/C, MG.	Uberlândia/T, MG.
Latitude	18° 58' 18" S	18° 55' 18" S	18° 54' 47" S
Longitude	47° 28' 22" W	48° 17' 19" W	47° 16' 39" W
Altitude	913 m	863 m	910 m
Tipo de solo	Latossolo	Latossolo	Latossolo
Cor de solo	Vermelho/ amarelo	Vermelho/ amarelo	Vermelho
pH	5,6	5,5	5,7
Modalidade	Plantio direto	Plantio direto	Plantio direto
Cultivo anterior	Soja	Soja	Nabo
População	65.000 p/ ha	65.000 p/ ha	62.500 p/ há
Controle de Plantas	Atrazina + Primestra	Atrazina, Primestra Gold	Gesaprim 5 l/ha
Controle Insetos	Piretróides a 300 ml ha ⁻¹ (Decis/Karate), Tracer a 0.5 ml ha ⁻¹		

Tabela A2. Características das localidades de avaliação dos cruzamentos teste nos estados do Paraná e Santa Catarina, durante a Safra de verão 2006/07.

	Abelardo Luz, SC.	Pinhã, PR.	Vitória, PR.
Latitude	26°57'14''	25°41'44''	25°23'36''
Longitude	52°23'98''	51°39'35''	51°27'19''
Altitude (m)	886	1041	1012
Tipo de solo	Latossolo	Latossolo	Latossolo
Cor de solo	Vermelho/Escuro	Vermelho/Escuro	Vermelho/Escuro
pH	5.7	5.8	5.6
Modalidade	Plantio Direto	Plantio Direto	Plantio Direto
Cultivo anterior	Cobertura de aveia inverno, soja verão	Cevada no inverno e Soja no Verão	Cevada no inverno e Soja no Verão
População	70.000 plantas	70.000 plantas	70.000 plantas
Controle de plantas	Atrazina + Simazina Glufosinato sal de amônio - jato dirigido.	Atrazina + Simazina Tembotriona - jato dirigido	Atrazina + Simazina e Glufosinato sal de amônio jato dirigido.
Controle Insetos	Piretroides(lambda-cialotrina),175ml ha ⁻¹ 2 aplicações.		

Tabela A4 Análise conjunta Sul, Abelardo Luz-SC, Pinhão-PR e Vitória-PR.
Dados: Grãos ardidos (GA), Rendimento (Prod.) e Umidade (U)

Entrada	Híbridos	GA	Prod.	U	Entrada	Híbridos	GA	Prod.	U
89	MH89	14.25	80.554	20.98	144		7.34	131.869	23.50
95	MH95	11.42	113.128	19.88	59		7.34	103.581	20.12
38	MH38	10.85	109.396	22.20	19		7.32	119.876	19.92
125	MH125	10.74	99.449	18.32	21		7.31	118.606	21.00
96	MH96	10.16	101.283	21.88	33		7.29	114.629	19.27
131		9.58	120.036	20.42	141		7.23	84.425	19.85
63		9.42	107.942	20.75	97		7.22	107.328	19.78
137		9.40	105.280	19.22	102		7.21	95.011	20.38
120		9.33	106.396	18.85	48		7.20	108.451	19.82
1		9.03	108.581	20.92	106		7.15	110.450	19.60
43		8.96	106.681	20.38	47		7.10	106.396	18.83
86		8.87	115.870	21.18	99		6.99	96.044	19.65
80		8.77	100.870	20.03	13		6.97	105.063	19.77
126		8.50	101.796	19.82	93		6.96	111.766	20.60
94		8.48	117.851	20.38	5		6.89	119.321	19.17
69		8.45	101.038	19.10	17		6.89	103.859	22.07
74		8.43	112.172	20.63	140		6.87	113.378	19.62
56		8.42	117.065	19.15	116		6.87	100.902	19.50
91		8.40	117.835	20.33	111	MH111	6.87	94.716	19.50
15		8.27	94.765	20.47	87	MH87	6.79	113.356	19.58
128		8.24	98.890	18.82	104	MH104	6.71	122.047	20.07
118		8.23	110.223	19.87	39	MH39	6.69	119.049	19.60
123		8.23	98.679	19.85	84	MH84	6.64	108.184	20.25
105		8.21	118.887	20.13	51		6.59	113.530	19.48
25		8.17	99.421	19.33	11		6.59	96.317	19.48
16		8.11	109.469	21.83	119		6.58	116.801	19.72
83		8.11	103.062	19.53	24		6.58	113.207	18.98
77		8.11	89.159	21.02	100		6.51	113.094	19.67
103		8.07	106.304	19.98	4		6.51	108.849	19.68
7		8.03	86.615	20.07	127		6.51	103.994	20.32
37		7.98	107.096	19.35	135		6.51	101.584	18.85
117		7.94	108.046	19.17	62		6.50	110.941	19.70
53		7.86	104.758	21.50	107		6.48	118.623	19.72
67		7.78	91.477	20.42	6		6.41	90.093	20.25
70		7.68	110.208	20.83	81		6.38	109.110	19.40
85		7.66	113.112	19.53	129		6.24	110.936	19.47
10		7.64	113.199	22.18	23		6.21	104.938	19.37
143	CheckS	7.52	117.484	19.15	26		6.17	120.399	18.75
60		7.52	94.674	21.60	12		6.12	107.397	19.33
18		7.46	113.117	19.78	36		6.12	96.892	19.70
66		7.44	114.465	19.10	65		6.11	107.945	19.87
31		7.43	117.888	19.02	54		6.11	94.349	19.42
130		7.43	113.784	20.07	132		6.09	110.842	19.00
75		7.40	94.613	20.10	20		6.06	104.242	19.85
139		7.36	73.116	16.95	114		6.04	109.725	20.13
49		6.03	101.899	18.87	44		5.35	116.427	19.67

Continua...

Entrada	Híbridos	GA	Prod.	U	Entrada	Híbridos	GA	Prod.	U
136		6.01	118.575	20.70	28		5.35	106.784	19.92
40		5.97	105.331	19.17	115		5.34	126.421	19.87
68		5.97	99.669	18.73	98		5.29	112.144	19.68
45		5.95	94.822	19.50	55		5.28	107.805	18.83
88		5.94	118.273	19.82	124		5.26	116.891	20.57
134		5.91	109.256	21.18	9		5.18	111.948	19.50
122		5.88	103.941	19.00	73		5.17	98.449	20.32
42		5.83	109.343	18.80	3		5.09	119.584	19.40
58		5.82	113.081	18.70	92		5.07	114.667	19.82
22		5.81	109.031	20.48	64		5.06	111.152	20.53
138		5.80	96.471	18.88	30		5.04	112.527	19.87
32		5.79	123.360	18.92	82		4.99	114.522	20.27
34		5.78	115.041	19.27	71		4.91	104.968	19.57
14		5.76	104.868	19.75	8		4.86	116.653	20.02
110		5.73	103.435	19.60	46		4.85	116.620	21.05
57		5.71	97.633	18.28	72		4.85	101.156	19.20
78		5.71	95.576	19.37	109		4.81	105.538	20.70
90		5.64	105.183	19.07	61		4.79	112.756	19.43
76		5.62	116.464	20.02	121		4.78	111.221	19.03
101		5.62	94.856	19.27	113		4.61	112.143	20.33
50		5.58	110.543	18.98	133	MH133	4.60	117.823	19.48
79		5.49	111.725	19.68	52	MH52	4.60	113.680	19.35
27		5.49	106.099	20.03	112	MH112	4.57	107.219	20.65
35		5.45	110.924	18.47	41	MH41	4.56	104.934	19.77
29		5.44	107.026	20.85	142	ChekR	4.40	118.475	20.70
108		5.35	117.671	19.60	2	MH02	4.06	116.926	18.73
Média geral		6.77	107.968	19.84					
# Locais		3	3	3					
# Repetição		6	6	6					
CV		42.09	9.336	4.535					
Repetibilidade		0.403	0.600	0.646					

Tabela A3 Análise conjunta centro, Iraí de Minas, Uberlândia/C e Uberlândia/T-MG. Dados: Grãos ardidos (GA), Rendimento (Prod.) e Umidade (U)

Entrada	Híbridos	GA	Prod.	U	Entrada	Híbridos	GA	Prod.	U
128	MH128	13.16	72.512	13.63	87		7.06	100.021	14.60
77	MH77	12.71	78.956	14.75	43		7.06	92.290	14.25
139		11.61	18.692	12.17	26		6.95	76.935	13.07
89	MH89	11.50	55.501	13.82	6		6.86	80.100	14.15
48	MH48	9.58	82.251	14.27	120		6.83	87.046	13.72
55	MH55	9.52	72.130	13.78	86		6.75	77.213	14.40
119		9.35	95.761	14.12	56		6.74	90.976	14.48
23		9.22	75.332	14.40	110		6.73	94.752	14.70
34		8.75	88.448	14.15	24		6.67	91.051	14.20
84		8.67	94.879	14.67	47		6.66	81.054	13.58
67		8.66	83.157	14.37	4		6.62	83.446	13.63
130		8.53	89.182	14.25	10		6.61	96.960	14.95
137		8.49	73.028	14.27	27		6.60	79.777	13.97
117		8.36	75.344	13.35	57		6.54	77.329	13.27
96		8.31	90.045	14.82	114		6.47	91.704	14.35
126		8.31	81.205	14.65	99		6.45	91.546	14.60
20		8.22	91.534	14.38	122		6.40	86.839	13.83
81		8.00	87.269	13.80	88		6.36	94.282	14.53
69		7.96	52.385	13.43	5	MH55	6.35	87.009	14.27
80		7.95	74.307	13.85	83	MH83	6.27	76.376	13.40
66		7.83	69.922	12.88	103	MH103	6.27	71.329	13.60
18		7.81	77.774	13.55	70	MH70	6.26	83.274	14.53
21		7.79	77.347	13.87	35	MH35	6.25	81.494	13.23
60		7.77	85.307	14.55	76		6.23	96.858	14.10
74		7.76	78.560	14.22	113		6.21	83.580	14.30
102		7.73	80.422	14.42	52		6.21	80.540	14.00
118		7.62	84.301	14.32	45		6.20	71.537	13.59
59		7.62	77.379	14.03	75		6.14	74.575	14.20
19		7.59	86.780	13.93	71		6.13	77.085	14.23
54		7.52	75.261	13.20	29		6.10	90.229	14.85
104		7.50	94.049	14.67	68		6.10	76.464	13.90
16		7.42	85.526	14.83	91		6.07	89.824	14.78
38		7.41	88.786	14.68	140		6.04	79.405	13.75
15		7.41	85.239	14.07	136		6.02	95.556	15.08
144		7.38	104.092	14.97	8		6.00	92.344	14.33
116		7.38	73.888	14.07	135		6.00	76.437	13.93
78		7.36	68.400	13.58	1		5.89	91.036	14.97
143	ChekS	7.34	92.292	13.73	33		5.84	90.448	13.62
97		7.33	83.576	13.20	124		5.84	78.556	14.22
7		7.31	75.206	13.97	92		5.79	82.064	14.32
17		7.30	87.767	13.92	123		5.76	75.164	13.77
131		7.24	82.818	14.38	22		5.73	88.209	14.53
108		7.12	88.759	13.48	121		5.72	86.549	13.10
98		7.10	73.491	13.82	125		5.72	82.280	13.57
129		7.08	85.091	13.87	95		5.71	83.734	13.90
85		5.67	85.891	13.42	63		4.74	71.158	14.28

Continua...

Entrada	Híbridos	GA	Prod.	U	Entrada	Híbridos	GA	Prod.	U
13		5.67	79.432	14.05	73		4.66	67.667	13.92
93		5.66	89.810	14.47	14		4.65	83.282	14.43
11		5.57	84.557	14.15	62		4.62	85.448	14.17
90		5.57	77.630	13.82	115		4.61	97.635	14.85
32		5.55	91.509	14.32	42		4.61	87.572	14.58
141		5.55	66.976	14.57	109		4.61	80.745	14.93
79		5.53	75.101	13.48	105		4.60	92.208	14.58
133		5.52	91.574	13.97	107		4.52	72.431	13.93
25		5.48	87.657	13.77	36		4.42	78.095	14.23
40		5.47	82.633	13.88	127		4.40	91.870	14.40
101		5.46	87.588	14.20	3		4.40	75.976	13.63
64		5.45	86.549	14.27	44		4.18	78.901	13.40
132		5.37	95.792	14.60	100		4.11	95.556	13.57
39		5.35	88.199	13.77	58		4.00	92.502	14.18
49		5.31	81.817	14.00	46		3.97	74.115	14.03
138		5.31	74.639	13.27	28		3.88	87.243	14.30
12		5.24	88.566	13.62	72		3.88	84.512	14.43
111		5.24	79.879	13.80	51		3.87	83.616	14.12
65		5.23	71.037	14.17	50		3.82	85.387	13.98
37		5.12	72.798	14.18	82		3.54	83.751	14.47
30		5.07	99.292	14.58	41	MH41	3.36	88.440	14.02
53		5.07	84.784	14.35	106	MH106	3.29	88.806	14.20
61		5.07	78.530	13.92	134	MH134	3.22	96.102	14.53
31		5.00	79.045	13.83	9	MH09	3.17	92.216	14.45
94		4.95	88.518	14.13	2	MH02	3.06	85.989	13.37
112		4.79	82.542	14.53	142	CheckR	2.89	100.443	14.78
Média geral		6.32	83.078	14.09					
# Locais		3	3	3					
# Repetição		6	6	6					
CV		46,50	9.308	5.267					
Repetibilidade		0.402	0.783	0.213					