

OK

Vol. N.º	54
Fase. N.º	383/75
Sub.	Jenio

Céres Bittencourt Moura

me) said  
22 50

Efeito do *Helminthosporium turcicum* Pass. em duas linhagens de milho (*Zea mays* L.), uma resistente e outra susceptível e nas gerações derivadas desses germoplasmas.

Dissertação apresentada ao Instituto de Biologia da UNICAMP para obtenção do título de mestre.

Orientador: William José da Silva

1978

UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL

ÍNDICE

INTRODUÇÃO	1
MATERIAL E MÉTODO	10
1. Teste Preliminar	10
2. Germoplasmas Estudados	11
3. Experimentação de Campo	13
4. Resposta da Planta ao <i>Helminthosporium turcicum</i>	16
5. Produção e Características Agronômicas	16
6. Análise Química	17
RESULTADOS E DISCUÇÃO	20
1. Aspectos Fitopatológicos	20
2. Características Agronômicas	30
3. Efeito do <i>Helminthosporium turcicum</i> na Composição Protéica do Endosperma	37
CONCLUSÕES	40
RESUMO	43
SUMMARY	45
BIBLIOGRAFIA	47

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. William José da Silva, Chefe do Departamento de Genética e Evolução do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, Orientador de programa e de Tese de Mestrado.

Ao Dr. Alcides Carvalho, Chefe da Seção de Genética do Instituto Agrônomo de Campinas.

Ao Magnífico Reitor Prof. Dr. Domingos Gomes de Lima, e aos Doutores José Aribaldo de Carvalho, Jarbas Bezerra e Tarcísio José de Almeida Moura, da Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

Ao Prof. Dr. Ladaslav Sodek e ao Prof. Dr. Antonio Celso Novaes Magalhães do Departamento de Fisiologia Vegetal do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas.

Ao Eng. Agr. Osvaldo Paradela Filho, Chefe da Seção de Microbiologia Fitotécnica do Instituto Agrônomo de Campinas.

Ao Prof. Dr. Valdemiro Sgarbieri da Faculdade de Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas.

Aos Senhores Paulo Arruda, Abigail Dorigati, Pedro Oleo, Bento Libano, Marilene Oleo e Aparecida Ramos Libano do Laboratório de Genética Vegetal do Departamento de Genética e Evolução do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas.

Ao Eng. Agr. João Paulo Feijão Teixeira, Chefe da

c

Seção de Fitoquímica do Instituto Agronômico de Campinas.

Ao Prof. Dr. Ivanhoé Baracho e ao Prof. Dr. Aquiles Eugênio Piedrabuena do Departamento de Genética e Evolução do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas.

Ao Prof. Dr. Bernardo Beiguelman e ao Dr. Walter Pinto Júnior do Departamento de Genética Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Ao Prof. Dr. Roland Vencovsky do Instituto de Genética da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" da Universidade de São Paulo.

Ao Eng. Agr. Altino Aldo Ortolani, Chefe da Seção de Climatologia do Instituto Agronômico de Campinas.

Aos senhores Clodomiro Rodrigues, Denise de Lima, Luiz Eurípedes da Silva e à Sra. Zilda Bueno Albieri pelos serviços técnicos realizados.

## INTRODUÇÃO

O milho apresenta dois tipos de mecanismos de resistência ao *Helminthosporium turcicum* : o sistema monogênico e o poligênico. HOOKER (1961) descreveu a herança monogênica estudando a resistência do milho ao *H. turcicum* nas linhagens GE440 e Ladyfinger. Este tipo de resistência é caracterizado pela formação de lesões cloróticas nas folhas, por um retardamento no aparecimento de necrose, e também pela redução no número de esporos formados na lesão. Um gene simples dominante, designado *Ht*, condiciona a resistência das plantas ao patógeno. Os genes *Ht* das linhagens GE440 e Ladyfinger, tanto podem ser alelos como genes estreitamente ligados. Até agora não foi possível, nos trabalhos de HOOKER (1963,a), distinguir um gene do outro pela reação da doença. Se forem de fato ligados devem ser muito estreitamente, uma vez que, até o momento, aquele autor não notou a ocorrência de recombinantes nas populações estudadas. HOOKER *et al.* (1964) testaram variedades e linhagens de milho de diferentes regiões geográficas e encontraram várias fontes portadoras de resistência clorótica, além do gene *Ht*.

HILU & HOOKER (1963), estudando a resistência monogênica, notaram que os primeiros sintomas apareciam na mesma época, tanto no material resistente como no susceptível. Entretanto, o aparecimento de necrose era retardado no milho resistente, e a formação de esporos, além de sofrer um atraso de cerca de dois dias e meio, ocorria em quantidade des-

prezível. Esse tipo de resposta é específico da resistência monogênica. Em plantas com resistência poligênica, a quantidade de esporos produzidos é praticamente a mesma de uma planta susceptível.

Plantas susceptíveis e resistentes, condicionadas pelo sistema monogênico, são facilmente reconhecidas pelo tipo de lesão (HOOKER, 1963,a). Nas plantas susceptíveis, as lesões necróticas típicas são alongadas e não apresentam clorose. As lesões das plantas resistentes são menores, com o centro necrosado circundado por um halo clorótico pronunciado. Plantas homozigotas *HtHt* apresentam lesões de tamanho reduzido e em número menor que as plantas heterozigotas *Htht*. Essas diferenças, entretanto, não são facilmente detectadas em plântulas (HOOKER, 1963,b). Embora, plantas com resistência clorótica possuam lesões menores que plantas susceptíveis, a sua característica mais importante é a diminuição da esporulação podendo chegar a uma quase completa inibição.

Em condições ambientais favoráveis, o *H. turcicum* reprod<sup>uz</sup> abundantemente em plantas susceptíveis causando o aparecimento de novas lesões. O patógeno espalha-se então rapidamente e pode infectar todas as folhas causando a morte prematura das plantas devido à formação de um grande número de lesões. A resistência clorótica pode efetivamente impedir uma segunda infecção através da inibição da reprodução do fungo. Se a maioria dos híbridos e variedades utilizados numa regi-

ão forem portadores de resistência clorótica, poderá ocorrer uma redução no potencial de inóculo de um ano para outro, e o número de infecções primárias no próximo ano poderia também ser reduzido (HOOKER, 1963,a,b). A diminuição da esporulação nas lesões de plantas *Ht*— é um fator importante na redução da quantidade de inóculo do *H. turcicum*. Teoricamente, se todo o milho de uma região for portador do gene *Ht*, o inóculo diminuirá até o ponto de ser virtualmente eliminado.

Além do gene *Ht*, outros *loci* têm sido identificados com características do sistema monogênico. O gene *HtN*, descrito por GEVERS (1975), confere maior resistência do milho ao *H. turcicum*. Este gene tem efeito razoavelmente estável, embora em algumas regiões do mundo, como na Índia, a expressão da resistência possa não se manifestar, dando segregação diferente da esperada para um gene dominante. Isto pode indicar tanto a presença de modificadores genéticos, como também uma ação retardada do gene *HtN*. Outro fator simples foi recentemente identificado por HOOKER (1977). Trata-se do gene *Ht2* que condiciona resistência clorótica ao *H. turcicum*. Este gene é dominante e não é ligado ao gene *Ht*. Em plantas *Ht2Ht2* a clorose é pronunciada e persiste por mais tempo que aquelas encontradas em plantas *Ht2ht2*. É difícil, entretanto, distinguir a segregação do gene *Ht2* numa população homozigota para o gene *Ht*. Plantas portadoras dos dois genes, *Ht* e *Ht2*, são mais resistentes que as portadoras só do gene *Ht*, ou do gene *Ht2*. A raça 2 do *H. turcicum*, existente no Havai,

é virulenta a indivíduos portadores do gene *Ht* do milho, mas não o é para plantas com o gene *Ht2*.

O sistema poligênico foi o primeiro tipo de resistência descrito e explorado nos programas de melhoramento visando aumento da resistência do milho ao *H. turcicum*. Neste sistema, as plantas tolerantes revelam uma pequena diminuição do tamanho da lesão, reduções no número de lesões e quantidade de esporos. Nos primeiros estudos sobre a resistência poligênica, JENKINS & ROBERT (1952) demonstraram claramente que a resposta das plantas era controlada por um grande número de genes, alguns com efeitos maiores, outros com efeitos menores, tanto para o caráter resistência como para o caráter suscetibilidade. Estes mesmos autores, em outro trabalho (1961), determinaram que há doze braços dos cromossomos do milho associados ao caráter resistência, e três braços associados à suscetibilidade. Há genes cujo efeito máximo se manifesta quando ocorre um baixo grau de infecção, outros revelam seu maior efeito em condições de alto grau de infecção. Outros ainda são mais eficientes se a doença ocorre num grau intenso de infecção (JENKINS *et al.*, 1952).

Em oito populações derivadas de linhagens resistentes e susceptíveis ao *H. turcicum*, HUGHES & HOOKER (1971) determinaram que o efeito aditivo parece ser o mais importante para explicar a resposta das plantas ao patógeno. Efeitos gênicos não-aditivos apresentaram grande variação em sua expressão e sua importância relativa parece depender da popula

ção envolvida e das condições climáticas no local do estudo. Embora efeitos gênicos não-aditivos tenham sido detectados, sua importância relativa foi bem menor que a dos efeitos aditivos. A resistência poligênica nas linhas estudadas por HUGHES & HOOKER (1971) mostrou que essa característica é condicionada por um número relativamente pequeno de genes, provavelmente variando de 3 a 6, com herdabilidade entre 40 e 70%.

Populações do *H. turcicum* podem apresentar vários graus de virulência. A ocorrência de linhagens mais virulentas do fungo em relação aos híbridos de milho em uso, depende da população local do patógeno. Recombinantes do fungo com melhor virulência tem sido obtidos em laboratório, demonstrando que novos biótipos poderão ocorrer na natureza. Fungos assim obtidos conseguiram atacar linhagens de milho tidas até então como resistentes (NELSON *et al.*, 1965).

A penetração direta do fungo na folha, o seu crescimento intracelular no clorênquima e posterior penetração no xilema são semelhantes, tanto nos tipos susceptíveis como nos resistentes monogênico e poligênico. A primeira diferença histológica entre os três é observada no xilema. O crescimento da hifa nas folhas susceptíveis é abundante quando comparado com um reduzido crescimento nos dois tipos resistentes. A redução do número e tamanho das lesões nas plantas resistentes parece ser devido à inibição do crescimento do fungo no xilema, diminuindo o crescimento e necrose (HILU &

HOOKER, 1964 ; JENNINGS & ULLSTRUP, 1957).

Os estudos de ULLSTRUP (1970) sugerem que o gene *Ht* confere uma menor proteção ao hospedeiro quando comparado com o sistema poligênico, nas mesmas condições de cultura. A área necrosada numa planta com resistência monogênica é menor que a de uma planta com resistência poligênica, porém a combinação da pequena área necrosada com os grandes halos cloróticos geralmente apresenta extensão maior que a área necrosada de uma planta com resistência poligênica. A causa da ocorrência da clorose não é conhecida, mas está relacionada com a presença do patógeno. Esta diminuição da área fotossintética afeta a produção de grãos.

O efeito na produção de grãos na presença do *H. turcicum*, *H. carbonum* e *H. maydis* foi estudado por ULLSTRUP & MILES (1957). A severidade do ataque dos três patógenos foi determinada, não pela primeira infecção, induzida artificialmente, mas sim pela segunda infecção que é influenciada pelas condições climáticas. Num experimento atacado severamente pelo *H. turcicum*, o híbrido mais resistente produziu 5.000 kg/ha a mais que o híbrido mais susceptível. Entretanto, esses autores demonstraram que na ausência do patógeno, híbridos susceptíveis podem produzir mais que os híbridos resistentes.

Como a resistência monogênica limita a reprodução do fungo, plantas portadoras do gene *Ht* produzem sementes maiores que as plantas susceptíveis. Além disso ocorre tam-

bém uma diminuição da podridão do colmo na presença do gene *Ht*. A incorporação da resistência monogênica em material susceptível é bem mais fácil que a seleção de plantas com resistência poligênica. Entretanto, os dois sistemas se complementam e devem ser usados simultaneamente (HOOKER & KIM, 1973). Dados de ULLSTRUP (1970) indicam que híbridos com resistência monogênica produzem menos que híbridos com resistência poligênica. As pesquisas de HOOKER & KIM (1973) entretanto, apresentam resultados exatamente opostos.

Se a doença ocorre desde a fase inicial de desenvolvimento da cultura do milho, toda a área cultivada poderá ser destruída pelo *H. turcicum*. Se a infecção se instala mais tarde, após a formação das espigas, e a planta estiver próxima da maturação fisiológica, as perdas limitam-se apenas à quantidade e qualidade da forragem e do grão (ELLIOTT & JENKINS, 1946).

A helmintosporiose é encontrada em quase todas as áreas do globo onde o milho é cultivado. É doença também muito freqüente no Brasil, encontrando-se relatos de sua ocorrência em quase todas as zonas de produção. A época do aparecimento da doença é determinada sobretudo pelas condições ambientais. Em condições favoráveis pode tornar-se ocasionalmente bastante severa : em anos quentes e úmidos pode ocorrer antes do florescimento do milho, enquanto que em anos quentes e secos pode não ser encontrada até o fim do ciclo (GALLI *et al.*, 1968). O desenvolvimento da doença é favorecido por

temperaturas variando entre 18 a 27°C associadas a condições de alta umidade durante o período de crescimento da planta . Entretanto, em condições de alta temperatura e baixa umidade, o desenvolvimento do fungo é retardado (SHURTLEFF *et al.*, 1973).

Com base na literatura citada observa-se que praticamente todos os trabalhos com *H. turcicum*, quer básicos ou aplicados, foram desenvolvidos nos E.E.U.U., na região do "cornbelt". No Brasil, os trabalhos com patógeno do milho são praticamente inexistentes, quer do ponto de vista genético, patológico, bioquímico ou agronômico.

Dai a nossa tentativa de estudar, pela primeira vez no país, populações derivadas de duas linhagens, uma tolerante e outra susceptível ao *H. turcicum*, especialmente selecionadas para tal fim. Essas populações foram estudadas do ponto de vista genético, agronômico e bioquímico (proteínas), na tentativa de estimular a realização de novos estudos, com outros agentes patogênicos do milho.

O presente trabalho visa o estudo do tipo de herança que condiciona a resposta ao *H. turcicum*, a avaliação dos danos causados pelo patógeno na produção de espigas, na prolificidade das plantas e no quebramento do colmo, em vários tipos de famílias, com maior ou menor grau de tolerância ao patógeno e vigor das plantas. Finalmente, como o patógeno reduz a área fotossintética das folhas, abreviando o período de maturação, estudou-se o efeito do *H. turcicum* na qualidade e quantidade das proteínas acumuladas no endosperma das linha-

gens resistentes e susceptíveis ao *H. turcicum*.

## MATERIAL E MÉTODO

### 1. TESTE PRELIMINAR

No período de 18 de agosto a 17 de setembro de 1976 foram testados preliminarmente vários fungicidas em plantas do cultivar Asteca Prolífico Resistente à Seca. Para tanto foi utilizado um lote isolado instalado na área experimental da UNICAMP, próxima ao local escolhido para instalação dos experimentos do presente trabalho. A finalidade desse teste foi selecionar um fungicida que pudesse controlar satisfatoriamente o *Helminthosporium turcicum* de modo a produzir, posteriormente, no ensaio de avaliação de genótipos, dois níveis de resposta ao fungo dentro de um mesmo genótipo.

Os defensivos, bem como seus respectivos produtos ativos e dosagens empregadas, de acordo com CARDOSO *et al.* (1976), são apresentados na TABELA 1. Cada fungicida foi aplicado em uma linha de 40 m de comprimento, ficando duas linhas de bordadura entre dois diferentes tratamentos. As pulverizações foram repetidas de sete em sete dias, durante um período de trinta dias. Após esse período, os tratamentos foram avaliados visualmente, com base no número e na distribuição de lesões na planta. O fungicida que apresentou o melhor controle foi o Dithane M-45, sendo assim eleito para ser utilizado no ensaio instalado em outubro de 1976.

## 2. GERMOPLASMAS ESTUDADOS

Os seguintes materiais foram estudados :

Linhagem L<sub>1</sub> : Linhagem S<sub>3</sub> isolada do sintético MÚl tiplos obtido de híbridos duplos semi-dentados amarelos. O sintético MÚl tiplos foi sintetizado na Seção de Genética do Instituto Agronômico de Campinas.

A Linhagem L<sub>1</sub> tem três ciclos de autofecundação e foi especialmente selecionada para esse estudo. Apresenta endosperma amarelo e é portadora de alta resistência ao *H. turcicum*.

Linhagem L<sub>3</sub> : Linhagem S<sub>3</sub> obtida do sintético MEB formado a partir de linhagens elites do cultivar Cateto e Tuxpeño. Foi também especialmente selecionada para a realização do presente trabalho. O sintético MEB foi obtido de linhagens elites, recuperadas, que foram previamente selecionadas para porte baixo, utilizando como pai recorrente, populações do "cornbelt" e Sul dos E.E. U.U. . O endosperma é predominante-

TABELA 1: Fungicidas testados previamente, seus respectivos produtos ativos e dosagens empregadas.

Produto Comercial	Produto Ativo	Dosagem*
Polyram-combi	Methiran	360
Benlate	Benomil	60
Difolatom	Captafol	180
Miltox	Zineb	140
Dithane M-45	Maneb	200

\* g P.A./100 l água

mente amarelo dentado, porém ocorrendo segregação para tipo branco. A linhagem  $L_3$  é cerca de dez dias mais precoce que a linhagem  $L_1$ .

A linhagem  $L_3$  tem três ciclos de autofecundação, tem endosperma branco, e é portadora de alta suscetibilidade ao *H. turcicum*.

- $F_1$  : Híbrido simples correspondente ao cruzamento das linhagens  $L_1$  com  $L_3$ . Apresenta endosperma do tipo amarelo dentado.
- $F_2$  : Corresponde à população  $F_1$  autofecundada, apresentando sementes dentadas segregando para coloração do endosperma, na proporção de 3 sementes amarelas para 1 semente branca.
- $BC_1$  : Retrocruzamento envolvendo 75% do germoplasma da linhagem  $L_1$  e 25% do germoplasma da linhagem  $L_3$ . Apresenta endosperma amarelo do tipo dentado.
- $BC_3$  : Retrocruzamento envolvendo 75% do germoplasma da linhagem  $L_3$  e 25% do germoplasma da linhagem  $L_1$ . Segrega para endosperma amarelo e branco, na proporção de 1 : 1.

### 3. EXPERIMENTAÇÃO DE CAMPO

Um experimento de campo foi instalado em 1976, onde foram avaliados os graus de resposta dos germoplasmas  $L_1$ ,  $L_3$ ,  $F_1$ ,  $F_2$ ,  $BC_1$  e  $BC_3$  ao *H. turcicum*, bem como o efeito do Dithane M-45 no controle do patógeno em cada uma dessas seis populações. O delineamento usado foi do tipo em faixas, com quatro repetições, correspondendo as faixas aos tratamentos com e sem fungicida, e as sub-parcelas aos diferentes germoplasmas. Cada unidade experimental constituía-se de uma linha de 4 m de comprimento no espaçamento de 1,0 x 0,4 m com duas bordaduras laterais. Portanto, cada unidade era constituída de 10 covas, as quais receberam três sementes cada uma. Aproximadamente 45 dias após o plantio, foi feito o desbaste deixando-se duas plantas por cova. As bordaduras laterais variaram de acordo com a quantidade de sementes disponíveis em cada germoplasma. No caso de falta de sementes utilizou-se um material diferente, porém com igual vigor, procurando-se dar um mesmo tipo de competição entre as plantas da parcela experimental. As diferentes bordaduras são apresentadas na TABELA 2. As dimensões do ensaio foram de 18 m de frente por 36 m de fundo, portanto com área de 648 m<sup>2</sup>. Para as famílias  $F_2$  e  $BC_3$ , que segregam para endosperma amarelo e branco, foi feita uma mistura das sementes de acordo com a proporção teórica da segregação. O plantio do ensaio foi realizado em 20

TABELA 2: Famílias, germoplasmas correspondentes e bordaduras do ensaio.

Famílias	Germoplasmas	Bordadura do Tratamento
L <sub>1</sub>	Múltiplos S <sub>3</sub>	Ip 3304
L <sub>3</sub>	MEB S <sub>3</sub>	Ip 3304
F <sub>1</sub>	Múltiplos S <sub>2</sub> x MEB S <sub>2</sub>	Hmd 7974
F <sub>2</sub>	(MEB S <sub>2</sub> x Múltiplos S <sub>2</sub> ) autofecundado	F <sub>2</sub>
BC <sub>1</sub>	(MEB S <sub>2</sub> x Múltiplos S <sub>2</sub> ) Múltiplos S <sub>2</sub>	Ip 3304
BC <sub>3</sub>	MEB S <sub>2</sub> x (MEB S <sub>2</sub> x Múltiplos S <sub>2</sub> )	Ip 3304

de outubro de 1976. As sementes da L<sub>3</sub> e BC<sub>3</sub> foram semeadas em gaze enrolada e colocadas para germinar em estufa à temperatura controlada (27 ± 2 °C). Esses cuidados especiais foram feitos na tentativa de se produzir plântulas com igual vigor inicial em todas as parcelas experimentais, pois, esses dois germoplasmas produziram sementes de tamanho reduzido no ciclo anterior, em virtude da sua alta suscetibilidade ao *H. turcicum*. Se semeadas diretamente no campo, ficariam em nítida desvantagem em relação aos outros germoplasmas. Após uma semana em câmara de germinação, as plântulas foram levadas ao campo e colocadas nos sulcos correspondentes.

A área onde o ensaio foi instalado tem sido utilizada intensivamente para o cultivo de milho, sendo os restos de cultura incorporados mecanicamente ao solo, após a colheita. Como a helmintosporiose ocorre endemicamente na área experimental, considerou-se desnecessária a execução de inoculação artificial para se garantir a presença do patógeno nas plantas em estudo.

As temperaturas médias bem como a quantidade de chuvas, que ocorreram no local do experimento, no período de outubro de 1976 a março de 1977 são mostrados na TABELA 3. Constatou-se pois, que as condições climáticas foram altamente favoráveis para o desenvolvimento e disseminação do patógeno.

Nas faixas correspondentes ao tratamento com fungicida foram feitas pulverizações semanais em todos os seis germoplasmas. Esse tratamento foi feito com Dithane M-45, na do-

TABELA 3: Temperatura média (°C) e precipitação total (mm) durante o período de avaliação do ensaio em Campinas (Dados fornecidos pela Seção de Climatologia do Instituto Agronômico de Campinas).

Ano	1976			1977		
Mês	out.	nov.	dez.	jan.	fev.	mar.
Temperatura Média (°C)	19,7	21,8	22,1	22,9	24,9	26,3
Precipitação total (mm)	126,2	100 0	177,5	380,6	56,3	122,7

sagem de 200 g do P.A. por 100 l de água, do 50º dia após o plantio até um mês após o florescimento, em 17 de fevereiro de 1977.

Vinte e três semanas após o plantio (SAP), foi feita a colheita das espigas e a pesagem de todas as sub-parcelas do ensaio.

O objetivo deste experimento foi de estudar as seguintes aspectos :

- a) Identificar se o tipo de resposta das plantas ao *H. turcicum* envolvia o sistema monogênico ou poligênico.
- b) Analisar o grau de resposta das plantas ao patógeno, nos diferentes germoplasmas, com e sem aplicação de fungicida.
- c) Estudar os danos causados pelo *H. turcicum* em famílias com grau variável de resposta ao fungo através da avaliação dos prejuízos na produção de grãos, na prolificidade (índice de espigas) e no quebramento do colmo.
- d) Estudar o efeito do *H. turcicum* na quantidade de proteínas do grão e na variação da concentração de albuminas, globulinas, zeína e glutelinas no endosperma.

#### 4. RESPOSTA DAS PLANTAS AO *Helminthosporium turcicum*

Essa característica foi estudada com base na sintomatologia apresentada pelas plantas infectadas com o fungo em duas épocas características : na 12<sup>a</sup> SAP, que corresponde à época do florescimento e na 17<sup>a</sup> SAP, época em que as plantas atingiram a maturação fisiológica. As avaliações foram feitas utilizando a escala (FIGURA 1) proposta por ULLSTRUP *et.al.* (1945) e posteriormente publicada por ELLIOTT & JENKINS (1946).

#### 5. PRODUÇÃO E CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS

A produção das plantas nas diferentes parcelas experimentais foi medida através do peso de espigas por 4 m<sup>2</sup>, sendo depois transformada em quilograma por hectare para análise dos experimentos. O índice de espigas estima a prolificidade das plantas e é medido com base no número de espigas por cem plantas. O quebramento do colmo foi analisado através da contagem do número de plantas quebradas por cem plantas .

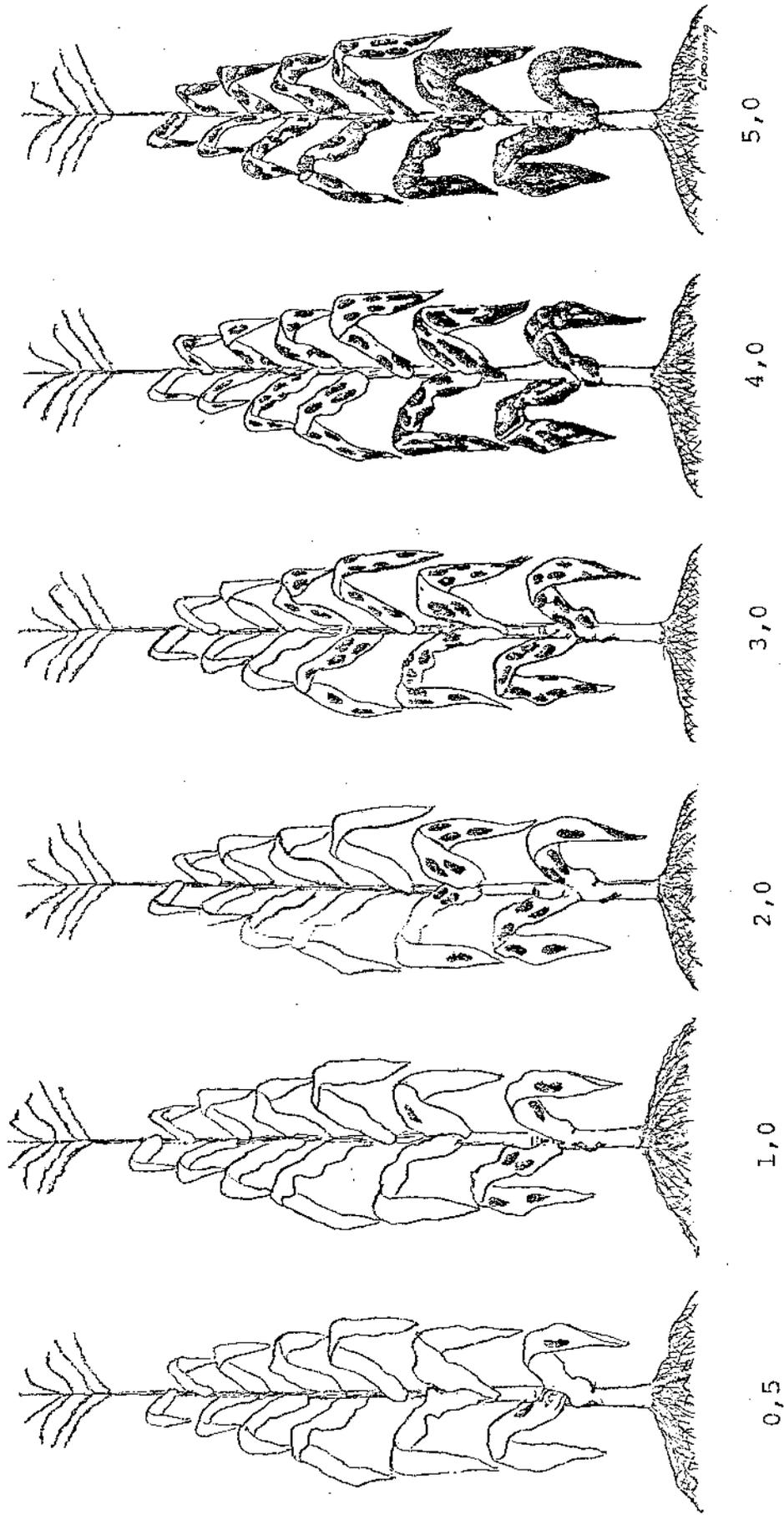


FIGURA 1 - Escala para avaliação dos danos causados pelo *H. turcicum* em folhas de milho. 0,5: infecção de intensidade muito baixa: uma ou duas lesões localizadas nas folhas inferiores; 1,0: infecção de intensidade baixa: algumas lesões espalhadas pelas folhas inferiores; 2,0: infecção de intensidade leve: número moderado de lesões nas folhas inferiores; 3,0: infecção moderada: número abundante de lesões nas folhas inferiores e poucas lesões na meia altura da planta; 4,0: infecção intensa: número abundante de lesões nas folhas inferiores e da meia altura, e poucas lesões nas folhas do alto da planta; 5,0: infecção muito intensa: número abundante de lesões em todas as folhas, pode provocar a morte prematura da planta (ELLIOTT & JENKINS, 1946).

## 6. ANÁLISE QUÍMICA

As amostras coletadas para as análises de proteínas, nos diferentes tratamentos, foram imediatamente retiradas das plantas, colocadas em gelo, liofilizadas e guardadas em dessecador até a época da realização das análises.

### *Proteína Total*

A dosagem da quantidade de proteína total dos grãos das famílias L<sub>1</sub>, L<sub>3</sub>, F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, BC<sub>1</sub> e BC<sub>3</sub>, de plantas pulverizadas e não-pulverizadas com Dithane M-45, foi feita na ocasião da colheita. Para tanto, foi retirado o embrião das sementes e, em seguida, o endosperma foi pulverizado em moinho de bola. Uma amostra de 100 mg da farinha desengordurada foi digerida, à quente, com 2 ml de ácido sulfúrico concentrado e destilada no micro-Kjeldahl pelo processo descrito por VILLEGAS & MERTZ (1971).

### *Fracionamento de Proteínas*

O fracionamento de proteínas do grão das linhagens

gens L<sub>1</sub> e L<sub>3</sub>, de plantas pulverizadas e não-pulverizadas com Dithane M-45, foi feito de acordo com o processo de LANDRY & MOUREAUX (1970), em duas épocas distintas : aos vinte dias após a polinização e na maturação completa. O pericarpo e o embrião das sementes liofilizadas foram retirados e, em seguida triturados em moinho de bola. As farinhas foram então desengorduradas com acetona ou éter, à temperatura ambiente.

A extração das frações protéicas foi feita por agitação da farinha em diversos solventes conforme a TABELA 4, na razão de 10 ml de solvente por grama de farinha. Após cada tratamento, as amostras foram centrifugadas a 940 - 1.100 g durante 10 minutos e o sobrenadante coletado. Os sobrenadantes de uma mesma fração foram coletados num mesmo balão, e o volume completado com o próprio solvente da fração. O resíduo final foi dissolvido em água acidificada com ácido sulfúrico concentrado.

A fração I foi tratada com ácido tricloroacético 10% na proporção 1 : 1 v/v, e centrifugada a 1.600 g durante 10 minutos. O sobrenadante contendo os aminoácidos livres foi coletado, enquanto que o resíduo contendo as albuminas e globulinas foi dissolvido em solução salina. Os extratos foram em seguida guardados em geladeira.

A dosagem foi realizada tomando-se uma alíquota de 5 ml de cada uma das frações para ser digerida, à quente, com 2 ml de ácido sulfúrico concentrado. Em seguida, foram destiladas com 8 ml de hidróxido de sódio 40%, em micro-Kjeldahl.

TABELA 4: Esquema de extração das frações protéicas.

Fração	Solvente	Tempo de Agitação	Fração Protéica
I	NaCl 0,5M (4°C)	60	
		30	
		30	
	água destilada gelada	15	Albuminas, Glôbulinas e
		15	Aminoácidos livres
II	IsPrOH 55p.100 (20°C)	30	
		30	
		30	Zeína
III	IsPrOH 55p.100 + 2-M.E. 0,6% (20°C)	30	
		30	Glutelina I
IV	Tampão pH. 10 + 2-M.E. 0,6% (20°C)	60	
		30	
		15	Glutelina II
V	Tampão pH 10 + 2-M.E,0,6% + LSS 0,5% (20°C)	60	
		30	Glutelina III
		15	Resíduo

Tempo de Agitação: minutos

Tampão pH 10:  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ , NaOH, NaCl 0,5

IsPrOH: álcool iso-propílico

2-M.E.: 2-mercaptoetanol

LSS: laurissulfato de sódio

O destilado foi coletado em 10 ml de ácido bórico 2% contendo três gotas de solução indicadora vermelho de metila 0,2%-verde de bromocresol 0,2% (1 : 5 v/v). Após a coleta de cerca de 75 ml, a solução foi titulada com ácido clorídrico padronizado até o ponto de viragem.

A prova em branco foi feita usando a mesma quantidade de reagentes e o mesmo tempo de digestão e destilação (VILLEGAS & MERTZ, 1971). A porcentagem de Nitrogênio (N%) e a porcentagem de Proteína (P%) para cada fração foi então calculada da seguinte maneira :

$$\%N = [(V - TB) C \times 14,007 \times 100] / M \quad e$$

$$\%P = 6,25 \times \%N$$

onde :

%N = porcentagem de Nitrogênio na fração ;

V = ml de HCl gasto para titular a amostra ;

TB = ml de HCl gasto para titular o teste em branco;

C = normalidade do HCl ;

M = mg da amostra destilada ;

%P = porcentagem de proteína na fração.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 1. ASPECTOS FITOPATOLÓGICOS

A linhagem  $L_3$  apresentou cerca de 45% de falhas na germinação e um desenvolvimento mais lento das plântulas, o que veio possivelmente acarretar um atraso no seu florescimento. A menor velocidade de crescimento das plântulas foi consequência do reduzido tamanho do endosperma, obtido em plantas fortemente atacadas pelo *H. turcicum* na geração anterior. As plantas  $L_1$ , apresentaram 80% de germinação e plantas bastante vigorosas. Na família  $F_1$  a germinação foi de 67%, 89% em  $F_2$  e 87% nos retrocruzamentos  $BC_1$  e  $BC_3$ .

Durante a condução do experimento foi feito um acompanhamento semanal da manifestação de sintomas causados pelo *H. turcicum* a partir da emergência. As primeiras lesões causadas pelo patógeno foram observadas em plantas  $BC_3$ , durante a 6<sup>a</sup> SAP. A esporulação nessas lesões ocorreu na 8<sup>a</sup> SAP, época em que apareceram os primeiros sintomas da doença em indivíduos das outras famílias.

Algumas lesões nas plantas  $L_1$ ,  $BC_1$  e  $F_2$  apresentaram halo púrpura ao redor da área necrosada. Numa fase anterior ao aparecimento da área necrosada, as folhas das plantas  $L_3$  e  $BC_3$  acusaram a presença do patógeno, com a formação de

manchas oleosas e clorose nas folhas.

Famílias segregantes derivadas do cruzamento de linhagem resistente e linhagem susceptível, tratadas e não tratadas com Dithane M-45, foram produzidas para obtenção de um gradiente de resistência ao *H. turcicum*. Essa variabilidade foi induzida no ensaio para se poder efetuar uma avaliação mais adequada das perdas na produção de grãos, na prolificidade e no quebramento do colmo das plantas, causadas pelo patógeno.

Durante a 12<sup>a</sup> SAP, época correspondente a semana do florescimento, e 17<sup>a</sup> SAP, estágio de milho pastoso, foram feitas avaliações do grau de ataque do patógeno nas plantas das diferentes famílias, usando a escala de ELLIOTT & JENKINS (1946). O resultado das avaliações do ensaio é apresentado na TABELA 5. Observa-se que o fungicida Dithane M-45 produziu efeito significativo no desenvolvimento e disseminação do fungo, em ambas as épocas de avaliação. As notas da 12<sup>a</sup> SAP variaram de 0,5 a 4,0 para as famílias pulverizadas, com média 2,2, enquanto que para as não-pulverizadas esse intervalo foi de 0,5 a 5,0, com média 2,7.

A avaliação na 17<sup>a</sup> SAP, nas famílias pulverizadas, teve nota variando de 1,0 a 5,0 com média 3,4, ao passo que nas não-pulverizadas, embora com intervalo semelhante, apresentou média 4,0. Deste modo, o efeito do *H. turcicum* foi mais intenso nas parcelas que não receberam fungicida e na segunda época de avaliação. Os resultados da

TABELA 5: Freqüência média de plantas por grau de ataque na 12ª e 17ª SAP.

Notas	PULVERIZADAS						NÃO - PULVERIZADAS					
	0,5	1	2	3	4	5	0,5	1	2	3	4	5
SAP	médias						médias					
12ª	L <sub>1</sub>	100,0				0,5	100,0					0,5
	L <sub>3</sub>		100,0			3,0			100,0			4,0
	F <sub>1</sub>		33,8	66,2		2,6		3,7	96,1			2,9
	F <sub>2</sub>		1,1	32,8	66,1	2,6		6,3	63,2	24,9	5,5	3,2
	BC <sub>1</sub>		51,9	40,2	7,9	1,5		12,7	62,8	24,4		2,1
	BC <sub>3</sub>			14,1	79,2	6,6		2,9	48,8	51,1		3,5
17ª	L <sub>1</sub>	31,1	41,1	27,8		1,9	7,9	35,8	50,4	3,1	2,9	2,5
	L <sub>3</sub>			39,9	60,1	4,5			25,0	75,0		4,7
	F <sub>1</sub>	1,7	8,6	61,9	26,4	1,4	3,2	13,5	9,6	50,9	26,0	3,9
	F <sub>2</sub>			47,8	32,1	20,1	3,7			24,0	76,0	4,7
	BC <sub>1</sub>	3,9	49,3	35,2	1,2	10,3	2,6	17,3	54,5	15,2	13,0	3,2
	BC <sub>3</sub>			11,4	28,6	60,0	4,4			100,0		5,0

12<sup>a</sup> SAP mostram uma distribuição do tipo leptocurtica em relação a 17<sup>a</sup> SAP, podendo esta diferença ser atribuída ao maior número e tamanho das lesões, e também à maior quantidade de inóculo na segunda época estudada.

Um teste de  $\chi^2$  foi feito para comparar as notas do tratamento pulverizado com o não-pulverizado, nas diferentes famílias, nas duas épocas estudadas (QUADRO 1). Na 12<sup>a</sup> SAP as linhagens parentais revelaram comportamento distinto em relação à resposta ao *H. turcicum*. A linhagem L<sub>1</sub> revelou-se praticamente sadia, com nota 0,5 em ambos os tratamentos, mostrando ausência do efeito do fungicida no material resistente. A linhagem L<sub>3</sub> apresentou, nos dois tratamentos, um considerável grau de ataque do patógeno, tendo nota 3,0 no tratamento pulverizado, e 4,0 no não-pulverizado. Nas famílias segregantes, somente a geração F<sub>2</sub> não apresentou efeito significativo da pulverização. Em plantas F<sub>1</sub>, BC<sub>1</sub> e BC<sub>3</sub> pulverizadas, o desenvolvimento do fungo foi significativamente reduzido como mostram as notas na TABELA 5.

Na 17<sup>a</sup> SAP todas as famílias apresentaram diferenças significativas para o efeito do fungicida. A menor diferença ocorreu em plantas L<sub>3</sub> com média 4,5 no lote pulverizado, e 4,7 no não-pulverizado.

A ausência da formação do halo clorótico nas lesões que caracteriza a herança monogênica indica, aparentemente, que a resistência das plantas ao patógeno é do tipo poligênica (ULLSTRUP, 1970). Contrastando-se os retrocruza

QUADRO 1: Valores de  $\chi^2$  dentro das diferentes famílias, com parando-se os tratamentos pulverizados e não-pulverizados com Dithane M-45, nas duas épocas de a valiação.

Famílias	12 <sup>a</sup> SAP	17 <sup>a</sup> SAP
L <sub>1</sub>	(a)	11,14 **
L <sub>3</sub>	(b) **	4,2 *
F <sub>1</sub>	22,3 **	15,0 **
F <sub>2</sub>	2,4 NS	43,9 **
BC <sub>1</sub>	8,2 **	17,6 **
BC <sub>3</sub>	40,4 **	33,6 **

(a): não foi calculado: (b): probabilidade das diferenças serem devidas ao acaso é  $8.10^{-7}$ .

mentos com as respectivas linhagens parentais, verifica-se que houve uma rápida recuperação do fenótipo das linhagens parentais em ambos retrocruzamentos  $BC_1$  e  $BC_3$ . Esse fato indica que a resistência do germoplasma estudado é condicionada por um pequeno número de genes. Resultados semelhantes foram obtidos por HUGHES & HOOKER (1971).

JENKINS & ROBERT (1952, 1961), JENKINS *et al.* (1952), HOOKER (1961, 1963, a, b, 1977), HILU & HOOKER (1963), ULLSTRUP (1970) descreveram dois tipos de resistência do milho ao *H. turcicum* caracterizados por ação dominante dos genes. HUGHES & HOOKER (1971) estudando a natureza da ação gênica que condiciona a resistência poligênica do milho ao *H. turcicum*, detectaram ação gênica do tipo aditiva, dominante e efeito epistático. Entretanto, a ação aditiva foi significativamente superior aos efeitos não-aditivos em quase todos os cruzamentos estudados. Aqueles autores concluíram que a resistência do milho à helmintosporiose, nas linhagens estudadas, era condicionada por um número relativamente pequeno de genes, provavelmente de três a seis, com efeito principalmente aditivo.

Na tentativa de se avaliar o grau relativo dos efeitos gênicos aditivos em relação aos não-aditivos empregou-se o modelo aditivo proposto por GARDNER & EBERHART (1966). Esse modelo estima parâmetros de efeitos genéticos em cruzamentos dialélicos e também em populações derivadas de populações paternas. Estes parâmetros são definidos como fun

ções das frequências gênicas e de efeitos aditivos e dominantes que ocorrem no *locus* individual. Desvios significativos deste modelo indicam a ocorrência de ação gênica do tipo epistática ou não-aditiva.

Os efeitos genotípicos nas seis famílias estudadas podem ser assim decompostos:

$$L_1 = m + l_1 + e_1$$

$$L_3 = m + l_3 + e_3$$

$$F_1 = m + 1/2(l_1 + l_3) + h + e_4$$

$$F_2 = m + 1/2(l_1 + l_3) + 1/2 h + e_5$$

$$BC_1 = m + 3/4 l_1 + 1/4 l_3 + 1/2 h + e_6$$

$$BC_3 = m + 1/4 l_1 + 3/4 l_3 + 1/2 h + e_7$$

onde:

$m$  = média da população estudada;

$l_1$  = efeito genético da linhagem  $L_1$ ;

$l_3$  = efeito genético da linhagem  $L_3$ ;

$h$  = heterose;

$e_i$  = erro experimental.

Aplicando-se a teoria dos quadrados mínimos obter-se-á o seguinte sistema de equações:



guintes estimativas dos parâmetros:

$$\hat{m} = 2,380$$

$$\hat{I}_1 = -1,679$$

$$\hat{I}_3 = 1,679$$

$$\hat{h} = 0,843$$

Os valores de  $Y_i$  observados e esperados, calculados com base nas estimativas dos parâmetros, são os seguintes:

$Y_i$	valores observados	valores esperados	desvios
$L_1$	0,500	0,701	-0,201
$L_3$	4,000	4,059	-0,059
$F_1$	2,962	3,223	-0,261
$F_2$	3,297	2,802	0,495
$BC_1$	2,118	1,962	0,156
$BC_3$	3,512	3,641	-0,129
		$\Sigma$ desvios =	0,001

O teste para verificar se o modelo adotado se ajusta aos dados observados pode ser feito através da seguinte análise da variância:

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	
TOTAL	6	52,714	8,786		
Parâmetros	3	52,313	17,438	1.089,87	**
Desvios	3	0,308	0,128	8,00	**
Resíduo	15		0.016		

Desta análise podemos concluir que o modelo aditivo difere significativamente do modelo observado, indicando assim que os efeitos genéticos nos diferentes *loci* não se adicionam, mas sim dependem de interações epistáticas.

Considerando a avaliação feita na 17<sup>a</sup> SAP, obtêm-se as seguintes estimativas dos parâmetros:

$$\hat{m} = 3,860$$

$$\hat{i}_1 = -1,223$$

$$\hat{i}_3 = 1,223$$

$$\hat{h} = 0,422$$

Os valores de  $Y_i$  observados e os esperados com base nas estimativas dos parâmetros na 17<sup>a</sup> SAP são os seguintes:

$Y_i$	valores observados	valores esperados	desvios
$L_1$	2,573	2,637	-0,064
$L_3$	4,750	5,083	-0,333
$F_1$	3,895	4,282	-0,387
$F_2$	4,760	4,071	0,689
$BC_1$	3,238	3,460	-0,222
$BC_3$	5,000	4,683	0,313

$$\Sigma \text{ desvios} = 0,003$$

O ajuste do modelo teórico aos dados observados pode ser estudado a partir da seguinte análise da variância:

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	
TOTAL	6	102,496	17,083		
Parâmetros	3	101,598	33,866	868,36	**
Desvios	3	0,898	0,299	7,68	**
Resíduo	15		0,039		

Os desvios do modelo sendo altamente significativos, como também ocorreu no teste da  $12^a$  SAP, indicando que os efeitos genéticos são do tipo não-aditivo, como ocorreu em apenas um dos oito híbridos simples estudados por HUGHES

& HOOKER (1971). Se esse tipo de efeito ocorrer freqüentemente em cruzamentos de outras linhagens, concluir-se-á que esquemas de seleção recorrente não são suficientes para utilizar todos os efeitos genéticos disponíveis para obtenção de plantas altamente resistentes, para exploração máxima dos efeitos genotípicos que condicionam resposta da planta ao *H. turcicum* em nossas condições. Se entretanto, o modelo não-aditivo se constituir numa exceção, o programa de melhoramento deverá se restringir apenas a esquemas de seleção que elevam a freqüência de genes para resistência dentro das populações.

## 2. CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS

Os resultados do efeito do *H. turcicum* na produção de grãos, índice de espigas e quebramento do colmo nas diferentes famílias, são apresentados na TABELA 6. O efeito de família foi altamente significativo (QUADRO 2) em função dos genes que conferem resistência das plantas ao *H. turcicum*, e também em decorrência das diferentes graus de vigor induzidos nas famílias de acordo com os cruzamentos artificiais e fetuados.

Espigas da linhagem L<sub>1</sub> coletadas durante a 15<sup>a</sup> SAP (estágio leitoso) não mostraram diferenças significativas entre os tratamentos, com e sem Dithane M-45, recebendo ambos nota 2,0. Na linhagem L<sub>3</sub> ocorreram diferenças significativas da aplicação do fungicida, recebendo o tratamento pulverizado nota 3,8 enquanto que o não-pulverizado obteve nota 5,0. Espigas das parcelas não tratadas revelaram tamanho reduzido e má granação. As espigas das plantas tratadas, embora de melhor aspecto, também mostraram falhas na granação.

Na ocasião da maturação completa notou-se que a ocorrência do patógeno nas folhas durante a maturação afetou o desenvolvimento da inflorescência, produzindo espigas menores, mal granadas, e com sementes de endosperma parcialmente cheio. Esses efeitos foram mais acentuados na ausência do fungicida. Observa-se que as famílias tratadas com Dithane

QUADRO 2: Análise da variância para produção de grãos nas seis famílias, nos tratamentos com e sem Dithane M-45.

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	
Repetição	3	482.464,06	160.821,35	1,90	NS
Família	5	11.327.304,69	2.265.460,94	26,81	**
Resíduo (a)	15	1.267.326,56	84.488,44		
Pulverizado	1	1.217.625,52	1.217.625,52	49,31	**
Resíduo (b)	3	74.080,73	24.693,58		
Fam. x Pulv.	5	949.483,85	189.896,77	5,12	**
Resíduo (c)	15	556.472,40	37.098,16		
TOTAL	47	15.874.757,81			

TABELA 6: Médias da produção de espigas (kg/ha), índice de espigas (%) e quebramento do colmo (%) das famílias L<sub>1</sub>, L<sub>3</sub>, F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, BC<sub>1</sub> e BC<sub>3</sub> na colheita (23<sup>ª</sup> SAP).

Famílias	PRODUÇÃO		ÍNDICE DE ESPIGAS		QUEBRAMENTO DO COLMO				
	P	NP	P	NP	P	NP			
L <sub>1</sub>	1.389	1.300	NS	73,5	71,0	NS	28,4	32,5	*
L <sub>3</sub>	39	0	NS	16,5	0	*	100,0	100,0	NS
F <sub>1</sub>	2.162	1.160	**	92,8	66,7	**	8,2	21,4	**
F <sub>2</sub>	1.161	750	**	59,1	56,7	NS	69,5	62,4	NS
BC <sub>1</sub>	2.162	1.592	**	87,6	66,4	**	28,4	41,5	*
BC <sub>3</sub>	953	766	**	57,8	76,1	*	79,3	89,7	**
Médias	1.310	911	**	64,5	56,1	*	51,3	57,9	NS

Tratamentos: P = Pulverizado; NP = Não-pulverizado.

M-45 apresentam espigas de melhor aspecto que as das respectivas parcelas não tratadas com o fungicida.

A análise da variância do QUADRO 2 indica que o efeito do Dithane M-45 foi altamente significativo, acarretando um aumento médio de 44% na produção dos tratamentos pulverizados. A interação Família x Pulverização foi também altamente significativa, indicando que o efeito do fungicida depende do tipo de família estudada. A ação mais efetiva do defensivo ocorreu na geração  $F_1$ , com a família pulverizada sendo 95% superior a não-pulverizada. A família  $F_2$  pulverizada foi 65% superior a não-pulverizada, enquanto que a geração  $BC_1$  pulverizada teve a sua produção 36% superior àquela registrada pelo lote  $BC_1$  não-pulverizado. O menor ganho ocorreu na família  $BC_3$  onde as parcelas tratadas com o fungicida produziram em média 24% a mais que as não tratadas.

A produção de grãos das linhagens mostrou que a aplicação do fungicida somente não foi eficiente nas linhas parentais. Na família  $L_1$  não ocorreu efeito do Dithane M-45, provavelmente por ser a linhagem  $L_1$  portadora de genes para resistência ao patógeno. Por outro lado, a linhagem  $L_3$  apresentou suscetibilidade tão alta ao *H. turcicum* que o tratamento com fungicida não foi suficiente para produzir qualquer vantagem no lote pulverizado. A aplicação do fungicida foi aparentemente mais eficiente em germoplasmas que, além de apresentar níveis intermediários de resistência ao patógeno, revelaram ainda plantas com maior vigor. Desse modo parece ser importante, não só a consideração dos efeitos genotípicos para

resistência das plantas ao patógeno, como também a sua associação com outros efeitos genotípicos para potencial de produção. Essas duas componentes devem, pois, ser consideradas simultaneamente para a avaliação mais precisa das perdas causadas pelo patógeno e também para decisão da conveniência ou não da aplicação de fungicidas para elevação da produtividade dos indivíduos.

Interessante notar também o efeito da pulverização na estimativa do grau de heterose. A diferença da produção de  $F_1$  e a média dos pais nas plantas tratadas foi de 1.448 kg/ha, enquanto que nas não tratadas foi de apenas 456 kg/ha. No lote pulverizado o  $F_2$  produziu 46% a menos que o  $F_1$ , enquanto que no não-pulverizado o  $F_2$  foi 36% inferior ao  $F_1$ . A família  $BC_1$  teve produção igual ao  $F_1$ , no lote tratado, e 44% a mais que o  $F_1$  no lote não tratado. Teoricamente, em milho, na ausência do *H. turcicum*, os retrocruzamentos dificilmente teriam condições de apresentar produção igual ou superior a da geração  $F_1$ . Entretanto, na presença do patógeno, o alto grau de resistência das plantas da geração  $BC_1$  foi mais importante que o efeito da heterose em  $F_1$ . A maior produtividade do  $BC_1$  se deve a maior frequência de genes para resistência ao *H. turcicum*. A família  $BC_3$ , por outro lado, portadora de alta suscetibilidade ao patógeno, produziu 56% a menos que o  $F_1$  no grupo pulverizado, e 31% a menos que o  $F_1$  no lote não-pulverizado. Em condições como esta, estimativas do grau de heterose, bem como efeito

de depressão de "inbreeding", podem levar a erros, pois estes efeitos poderão ser mascarados pelo grau de resistência das plantas ao *H. turcicum*.

O contraste da produção de grãos do lote sem tratamento versus o lote que recebeu Dithane M-45, nos diferentes tipos de famílias, revela, indiretamente, os danos causados pelo patógeno. Entretanto, essas diferenças são possivelmente subestimadas nesse experimento, porque mesmo a linhagem resistente L<sub>1</sub> tratada com o fungicida apresenta sintomas.

Tradicionalmente a avaliação de danos provocados por agentes patogênicos em plantas é feito tomando-se cultivares comerciais e contrastando-os em tratamentos com e sem fungicida. Pouca atenção é dada à resposta da planta ao agente patogênico, bem como ao potencial de produtividade das plantas analisadas. Como foi visto, entretanto, a variabilidade genética dentro de cultivares, para resposta a um determinado patógeno, bem como o potencial produtivo desses cultivares, são pontos críticos que devem ser considerados para uma avaliação mais adequada dos danos causados pelo patógeno. Embora as famílias tenham apresentado um dano médio de 44% causado pelo *H. turcicum*, o intervalo de resposta variou de zero a 95% nos seis tipos de famílias, de acordo com o grau de magnitude relativo dos dois fatores citados.

Estudou-se também a correlação entre a produção de espigas e o ataque do patógeno. A finalidade foi a de ve

rificar o grau de associação entre duas características e utilizar essa informação posteriormente no melhoramento de plantas. Num programa de seleção a escolha de indivíduos com base no padrão de lesões foliares produzidas pelo patógeno, poderia também conduzir a seleção de indivíduos mais produtivos. A análise da correlação da produção e nota correspondente ao grau de resposta da planta ao patógeno, na 12<sup>a</sup> SAP revelou um coeficiente de correlação  $r = -0,59$  significativo a 5% de probabilidade. A análise da correlação da produção e nota na 17<sup>a</sup> SAP apresentou um coeficiente de correlação  $r = -0,73$ , significativo ao nível de 1% de probabilidade. Estes resultados aparentemente indicam que a seleção de indivíduos mais resistentes ao *H. turcicum* (menor nota) poderá elevar a produtividade das plantas, uma vez que 35 a 50% da produção de grãos pode ser explicada pelas notas de resposta da planta ao patógeno.

Além da produção de grãos, foi estudado o efeito do grau de resistência das plantas ao patógeno na prolificidade dos indivíduos e no quebramento do colmo. O índice de espigas de 64,5% nas famílias com pulverização foi significativamente superior ao das não tratadas, que apresentaram um valor de 56,1%. Isto mostra que o Dithane M-45 é eficiente no controle do patógeno, acarretando um aumento de 15% na prolificidade das plantas (QUADRO 3). Na linhagem resistente  $L_1$  não houve ação significativa do fungicida. A linhagem parental  $L_3$  susceptível ao *H. turcicum*, embora com indi

QUADRO 3: Análise da variância para índice de espigas nas seis famílias, nos tratamentos com e sem fungicida. Os valores foram transformados em ângulos pela fórmula  $x^\circ = \text{arc sen } \sqrt{V_p}$ .

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	
Repetição	3	840,72	280,24	6,28	**
Família	5	20.064,99	4.012,99	89,92	**
Resíduo (a)	15	669,39	44,63		
Pulverizado	1	707,82	707,82	11,92	*
Resíduo (b)	3	178,09	59,36		
Fam. x Pulv.	5	1.652,99	330,59	4,98	**
Resíduo (c)	15	995,15	66,34		
TOTAL	47	25.109,17			

ce de espigas baixo (16,5%), foi significativamente superior a linhagem  $L_3$  não-pulverizada, que não produziu espigas.

Nas famílias segregantes, o tratamento com fungicida deixou de apresentar diferenças significativas apenas na geração  $F_2$ . A família  $F_1$  pulverizada apresentou-se 39% superior ao  $F_1$  não-pulverizada. Analogamente, o  $BC_1$  pulverizado apresentou prolificidade 32% maior que o  $BC_1$  sem tratamento com o fungicida. O efeito do fungicida, embora significativo na família  $BC_3$ , apresentou resposta inversa, sendo o índice de espigas das plantas não tratadas 24% maior que o das tratadas. Entretanto, a produção da família  $BC_3$  não-pulverizada foi 20% inferior a do  $BC_3$  pulverizado, em virtude da diminuição da área fotossintética pelo patógeno, causando enchimento parcial do grão. A prolificidade tem sido mostrada como importante componente na produção de grãos em material sadio, por COLLINS *et al.* (1965), BUREN *et al.* (1974) e DUVICK (1974). Daí concluímos que a redução da prolificidade pelo patógeno deve acarretar em efeito direto prejudicial na produção de grãos.

A variação altamente significativa do índice de espigas observado nas seis famílias é atribuída, não só à resistência das plantas ao *H. turcicum*, como também à capacidade produtiva dos diferentes germoplasmas. Assim, por exemplo, os índices de espigas de 73,5% em  $L_1$  tratado, e 71,0% em  $L_1$  não tratado, são devidos principalmente ao grau de resistência das plantas ao patógeno. Já valores da famí

lia  $F_1$ , de 92,8% para o lote tratado, e 66,7% para o não tratado, tem contribuição do efeito dos genes para resistência ao patógeno, além daqueles que determinam a capacidade produtiva (grau de vigor) dos indivíduos.

Outra característica agronômica estudada foi o quebramento do colmo, pois a presença do patógeno nas folhas reduz o vigor das plantas e poderia afetar a resistência do colmo. O fungicida, atuando sobre o desenvolvimento e disseminação do *H. turcicum* não acarretou redução significativa na frequência do quebramento do colmo nas diferentes famílias estudadas (QUADRO 4). A linhagem  $L_3$ , altamente susceptível ao patógeno, não respondeu significativamente ao efeito do fungicida, apresentando 100% de quebramento do colmo na ocasião da colheita, em ambos os tratamentos. Por outro lado, todas as plantas da linhagem susceptível  $L_3$  mostravam-se erectas por ocasião do florescimento. Como ocorreu para produção e índice de espigas na geração  $F_1$  foi registrada também a maior diferença do efeito do fungicida, com as parcelas tratadas apresentando 62% menos colmos quebrados que as progênies não tratadas. Nas parcelas tratadas da família  $BC_1$  e  $BC_3$  houve redução do quebramento de colmo de 32 e 18% respectivamente.

QUADRO 4: Análise da variância para porcentagem de quebra-  
mentos do colmo nas seis famílias, nos tratamen-  
tos com e sem Dithane M-45. Os valores do índice  
foram transformados em ângulo pela fórmula  
 $x^\circ = \text{arc sen } \sqrt{p}$ .

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	
Repetição	3	345,95	115,32	0,32	NS
Família	5	27.524,81	5.504,96	15,39	**
Resíduo (a)	15	5.366,91	357,79		
Pulverizado	1	509,18	509,18	10,00	NS
Resíduo (b)	3	152,73	50,91		
Fam. x Pulv.	5	352,63	70,53	0,53	NS
Resíduo (c)	15	1.982,42	132,16		
TOTAL	47	36.234,64			

### 3. EFEITO DO *Helminthosporium turcicum* NA COMPOSIÇÃO DE PROTEÍNAS DO ENDOSPERMA

O efeito do *Helminthosporium turcicum* no acúmulo de proteína total do grão foi estudado em sementes das famílias L<sub>1</sub>, L<sub>3</sub>, F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, BC<sub>1</sub> e BC<sub>3</sub> no estágio de maturação completa. A TABELA 7 apresenta a porcentagem de proteína total nas sementes das seis famílias nos lotes pulverizados e não-pulverizados com Dithane M-45. O contraste entre as médias dos dois lotes não revelou diferenças significativas (QUADRO 5). O controle parcial do patógeno foi suficiente para alterar o total de proteínas nos diferentes tipos de famílias com exceção do BC<sub>3</sub>. As famílias F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> e BC<sub>1</sub> não tratadas com Dithane M-45 apresentaram maior porcentagem de proteína total que seus respectivos lotes tratados. Efeito semelhante é descrito por VIDHYASEKARAN & RAMADOSS (1973) e VIDHYASEKARAN *et al.* (1973) em variedades de arroz. Plantas inoculadas com *H. oryzae* apresentaram aumento no teor de proteína e subsequente aumento de vários aminoácidos essenciais, devido a infecção, enquanto amido e açúcares solúveis foram drasticamente reduzidos. Os estudos desses autores também revelaram que a helmintosporiose do arroz causa uma redução apreciável na produção e qualidade do produto. Nos lotes da linhagem L<sub>1</sub> houve diferença significativa, mas a relação foi inversa; as plantas menos

TABELA 7: Percentagem de proteína total em grãos das seis famílias, na 23<sup>a</sup> SAP.

Família	Tratamentos		
	P	NP	
L <sub>1</sub>	9,6	8,9	**
L <sub>3</sub>	10,4	-	-
F <sub>1</sub>	7,8	8,2	*
F <sub>2</sub>	9,1	10,4	**
BC <sub>1</sub>	8,4	8,8	*
BC <sub>3</sub>	9,6	9,7	NS
Médias <sup>(a)</sup>	8,9	9,2	NS

(a): sem a família L<sub>3</sub>.

Tratamentos: P = pulverizado; NP = não-pulverizado.

QUADRO 5: Análise da variância para proteína total (%) nas famílias L<sub>1</sub>, F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, BC<sub>1</sub> e BC<sub>3</sub> no estágio de milho seco, nos tratamentos com e sem fungicida. Os valores percentuais foram transformados em ângulos pela fórmula  $x^\circ = \text{arc sen } \sqrt{p}$ .

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	
Repetição	3	2,750	0,917	1,45	NS
Família	4	17,765	4,441	7,04	**
Resíduo (a)	12	7,570	0,631		
Pulverizado	1	0,750	0,750	7,28	NS
Resíduo (b)	3	0,309	0,103		
Fam. x Pulv.	4	4,093	1,023	1,68	NS
Resíduo (c)	12	7,316	0,610		
TOTAL	39	40,553			

atacadas pelo patógeno apresentaram maior porcentagem de proteína.

O efeito do *H. turcicum* no acúmulo das várias proteínas do endosperma do milho foi analisado nas duas linhagens  $L_1$  e  $L_3$  na 15<sup>a</sup> SAP (estágio de milho leitoso) e 23<sup>a</sup> SAP (maturação completa). O fracionamento de proteínas das sementes da família  $L_3$  na 23<sup>a</sup> SAP não pode ser realizado em virtude da falta de sementes para as análises, em função do grande prejuízo causado pelo patógeno às plantas na fase de maturação. Os resultados dessas análises são apresentados na TABELA 8.

Os resultados revelam que não ocorreu diferenças significativas no teor de proteína das linhagens  $L_1$  e  $L_3$  nos tratamentos pulverizado e não-pulverizado com Dithane M-45 na 15<sup>a</sup> SAP (QUADRO 6). Entretanto o teor de proteína total na linhagem  $L_1$  na 23<sup>a</sup> SAP, mostrou distinto nos lotes pulverizados e não-pulverizados com o fungicida, embora as notas dadas aos tratamentos na 17<sup>a</sup> SAP, 1,9 e 2,5 respectivamente, tenham oscilado dentro da faixa esperada para germoplasma resistente e a produção de espigas não tenha diferido nos dois tratamentos. A análise de variância nos QUADROS 7 a 9, revela que não ocorreram diferenças significativas entre os tratamentos pulverizado e não-pulverizado nas linhagens  $L_1$  e  $L_3$  na 15<sup>a</sup>, e  $L_1$  na 23<sup>a</sup> SAP, em todas as seis frações nitrogenadas estudadas. Os dados indicam, aparentemente, que embora o efeito do *H. turcicum* te

TABELA 8: Porcentagem de proteína total e porcentagem de proteína em relação à proteína total nas frações, em L<sub>1</sub> e L<sub>3</sub>, na 15ª e 23ª SAP.

	15ª SAP						23ª SAP					
	L <sub>1</sub>			L <sub>3</sub>			L <sub>1</sub>			L <sub>3</sub>		
	P	NP	NS	P	NP	NS	P	NP	NS	P	NP	NS
Proteína	12,5	11,7	NS	12,9	11,4	NS	9,6	8,9	**	10,4	-	-
A.A.	22,5	25,7	NS	22,2	20,8	NS	7,5	5,3	NS	4,9	-	-
I'	17,7	16,8	NS	15,9	13,6	NS	1,7	1,9	NS	1,7	-	-
II	20,2	27,1	NS	25,1	25,6	NS	44,8	45,0	NS	45,8	-	-
III	10,8	9,1	NS	7,2	10,0	NS	10,3	11,2	NS	14,7	-	-
IV	7,6	8,1	NS	9,0	9,2	NS	9,5	10,1	NS	8,7	-	-
V	11,4	9,5	NS	12,9	13,8	NS	21,8	22,6	NS	22,0	-	-

Frações: A.A. = aminoácidos livres; I' = albuminas e globulinas; II = Zeína; III = glutelina I; IV = glutelina II; V = glutelina III.  
 Tratamentos: P = Pulverizado; NP = Não-pulverizado.

QUADRO 6: Análise de variância para proteína total (%) nas linhagens L<sub>1</sub> e L<sub>2</sub>, aos vinte dias após a polinização (15<sup>a</sup> SAP), nos tratamentos com e sem fungicida. Os valores foram transformados em ângulos pela fórmula  $x^\circ = \text{arc sen } \sqrt{p}$ .

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	
Repetição	2	0,532	0,266	0,947	NS
Família	1	0,003	0,003	0,001	NS
Resíduo (a)	2	0,562	0,281		
Pulverizado	1	2,966	2,966	12,54	NS
Resíduo (b)	2	0,473	0,237		
Fam. x Pulv.	1	0,250	0,250	1,61	NS
Resíduo (c)	2	0,311	0,156		
TOTAL	11	5,117			

QUADRO 7: Análise da variância da porcentagem de proteína nas frações da linhagem L<sub>1</sub>, aos vinte dias após a polinização, nos tratamentos com e sem Dithane M-45. Os valores foram transformados em ângulos pela fórmula  $x^\circ = \text{arc sen } \sqrt{p}$ .

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	
Pulverizado	1	1,19	1,19	1,35	NS
Fração	5	103,29	20,66	23,32	**
Pul. x Fraç.	5	1,54	0,31	0,35	NS
Pulv., Fraç.	11	106,03	9,64	10,88	**
Resíduo	36	31,90	0,89		
TOTAL	47	137,93			

QUADRO 8: Análise da variância da porcentagem de proteína nas frações da linhagem L<sub>3</sub>, aos vinte dias após a polinização, nos tratamentos com e sem Dithane M-45. Os valores foram transformados em ângulos pela fórmula  $x^\circ = \text{arc sen } \sqrt{p}$ .

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	
Pulverizado	1	1,34	1,34	2,11	NS
Fração	5	90,54	18,11	28,47	**
Pulv. x Fraç.	5	2,46	0,49	0,775	NS
Pulv., Fraç.	11	94,34	8,58	13,48	**
Resíduo	24	15,27	0,64		
TOTAL	35	109,61			

QUADRO 9: Análise da variância da porcentagem de proteína nas frações da linhagem L<sub>1</sub>, no estágio de milho sêco, nos tratamentos com e sem Dithane M-45. Os valores foram transformados em ângulos pela fórmula  $x^\circ = \text{arc sen } V\hat{p}$ .

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	
Pulverizados	1	0,78	0,78	4,25	NS
Fração	5	428,86	85,77	467,28	**
Pulv. x Fraç.	5	1,39	0,28	1,51	NS
Pulv., Fraç.	11	431,03	39,18	213,47	**
Resíduo	36	6,61	0,18		
TOTAL	47	437,64			

nha sido bastante significativo para produção de grãos e prolificidade, não foi suficiente para causar desequilíbrio no acúmulo das diferentes proteínas do endosperma do milho. Além de não ocorrer diferenças significativas nas proporções de albuminas e globulinas, zeína e glutelinas nos lotes tratados e não tratados com fungicida, a fração de aminoácidos livres também não apresentou diferenças significativas apesar das severas reduções ocorridas no peso do endosperma das plantas fortemente atacadas pelo *H. turcicum*.

## CONCLUSÕES

A resposta das plantas ao *Helminthosporium turcicum* nas famílias estudadas L<sub>1</sub>, L<sub>3</sub>, F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, BC<sub>1</sub> e BC<sub>3</sub>, parece caracterizar o tipo de resistência poligênica. A rápida recuperação do fenótipo das linhagens parentais em ambos os retrocruzamentos BC<sub>1</sub> e BC<sub>3</sub>, sugere que o caráter na população estudada é condicionado por um pequeno número de genes, com ação predominantemente do tipo não-aditivo.

O efeito do patógeno reduzindo a área fotossintética das folhas acarreta diminuição da produtividade das plantas sob várias formas. Espigas menores, mau granadas, com sementes de endosperma parcialmente cheios são características comuns de plantas susceptíveis ao *H. turcicum*. Em nossos estudos, em condições ideais para a ocorrência do patógeno, a helmintosporiose foi responsável por uma redução média de pelo menos 44% na produção de espigas, nas seis famílias estudadas. Essa diferença foi medida comparando-se as famílias tratadas com Dithane M-45, com as não pulverizadas. O efeito do fungicida variou com o tipo de família, apresentando maiores reduções na família F<sub>1</sub>, seguido da F<sub>2</sub>, BC<sub>1</sub> e BC<sub>3</sub>, com perdas de 95, 65, 36 e 24%, respectivamente. Nas linhagens não houve efeito significativo do defensivo, principalmente em função do reduzido vigor das plantas, em consequência do alto "inbreeding". Outro fator foi a alta susce-

tibilidade da linhagem L<sub>3</sub>. A aplicação do Dithane M-45 foi mais eficiente em germoplasma que, além de apresentar níveis intermediários de resistência ao patógeno, revelou ainda maior vigor. Portanto, para a avaliação das perdas, julgamos importante considerar não só os efeitos genotípicos para resistência das plantas ao patógeno, como também os efeitos genotípicos para potencial de produção das plantas. Estes pontos são básicos para orientar a seleção de genótipos com alta produtividade, bem como para proporcionar uma avaliação mais precisa das perdas causadas pelo patógeno. Esse tipo de estudo permite ainda decidir da conveniência, ou não, da utilização de fungicidas de acordo com o genótipo dos cultivares.

Os coeficientes de correlação entre produção de grãos e nota (grau de resistência) das plantas na 12<sup>a</sup> SAP ( $r = -0,59$ ), e na 17<sup>a</sup> SAP ( $r = -0,73$ ) sugerem que a seleção de plantas com base na escala de notas conduzirá a seleção de indivíduos mais produtivos.

O efeito do *H. turcicum* na prolificidade das plantas representou uma redução média de pelo menos 15 % no número de espigas por planta. Esses dados revelam a importância dessa componente na produção de grãos, em milho.

Famílias não tratadas com Dithane M-45 não apresentaram maior porcentagem de proteína total que os respectivos lotes tratados. O estudo do fracionamento de proteínas indica que o efeito do *H. turcicum*, embora bastante

significativo na redução do tamanho do endosperma, não foi suficiente para determinar acúmulo diferencial de proteínas e de aminoácidos livres, no endosperma de milho susceptível.

Apesar dos significativos prejuízos causados pelo *H. turcicum*, reduzindo a produtividade das plantas susceptíveis, o valor nutritivo das proteínas do milho aparentemente não é afetado pelo patógeno.

## RESUMO

Duas linhagens de milho  $S_3$ , uma resistente, e outra susceptível ao *Helminthosporium turcicum*, e suas gerações  $F_1$ ,  $F_2$ , bem como os dois retrocruzamentos, foram estudados em condições bastante favoráveis para o desenvolvimento do agente patogênico. As seis populações foram avaliadas em 1976/77, na Área Experimental da UNICAMP, em um ensaio com delineamento em faixa, com quatro repetições. As parcelas maiores corresponderam aos tratamentos com e sem o fungicida Dithane M-45 na concentração de 200 g P.A./100 l de água, e as sub-parcelas constituíram-se dos seis germoplasmas. A variabilidade genética para resistência das plantas ao *H. turcicum* foi estudada em estreita associação com o potencial produtivo dos diferentes germoplasmas, com e sem fungicida. O objetivo desse trabalho foi o de criar um gradiente de respostas ao fungo para estudar melhor a redução de produtividade das plantas causada pelo *H. turcicum*.

Os resultados indicam que a resistência das plantas é aparentemente do tipo poligênico, e condicionada por um pequeno número de genes de efeito principalmente do tipo não-aditivo.

Os prejuízos causados pelo *H. turcicum* na produção de espigas das famílias derivadas das duas linhagens

variou de 24 a 95%, dependendo da freqüência de genes para resistência ao patógeno e do potencial produtivo das progênies analisadas. A interação desses dois fatores determina a viabilidade da utilização de fungicida para reduzir os prejuízos causados pelo *H. turcicum*. Uma redução média de 15% na prolificidade das plantas foi também observada pela ação do patógeno. Entretanto o fungo não causou nenhum prejuízo significativo no quebramento do colmo das plantas das várias famílias analisadas.

O teor de proteína total, bem como a proporção relativa das diferentes frações nitrogenadas no endosperma não foram afetadas pela presença do *H. turcicum* nas folhas. Assim, do ponto de vista de valor nutritivo o *H. turcicum*, não reduziu a qualidade das proteínas das plantas infectadas.

Estudos desse tipo envolvendo análise genética, a valiação de danos e alterações químicas induzidas por patógenos, podem estimular a realização de pesquisas semelhantes nesse campo.

## SUMMARY

A resistant S<sub>3</sub> maize line, a susceptible S<sub>3</sub> line to Northern corn leaf blight caused by *Helminthosporium turcicum* and related crosses were studied. The parental lines F<sub>1</sub>, the F<sub>2</sub> and two backcrosses were studied in optimum conditions for the development of the pathogen. The six populations were evaluated in the Experimental Area of the UNICAMP in 1976/77, in a split-plot design with four replications. The plots corresponded to the treatments with or without Dithane M-45 at the concentration of 200 g A.P. / 100 l water, and the sub-units to the six germplasms.

Genetic variability of the plant response to the pathogen was studied in close relationship with the yield of the different germplasm, with and without fungicide treatment. The objective of this research was to create a plant gradient of response to the fungus to study productivity reduction caused by *H. turcicum*.

Results indicated that plant resistance to *H. turcicum* is apparently polygenic and conditioned by a few genes showing non-additive genetic effects. Yield reduction caused by *H. turcicum* varied from 24% to 95%, depending on gene frequency for resistance to the pathogen and also according to the potential productivity of the cross. The interaction between the two factors determines the viability

of the use of fungicides to reduce yield damage caused by *H. turcicum*. An average reduction of 15% in plant prolificity was also observed due to the effect of the pathogen. However no significant effect of the fungus was found in stalk breakage.

*H. turcicum* had not effect on the total protein neither on the different nitrogen fraction of the endosperm. Thus for feeding purpose *H. turcicum* did not effect the protein quality of kernels of infected plants.

This kind of study involving genetic analysis, estimation of damage, followed by chemical alterations in protein quality caused by a pathogen may stimulate further research in this field.

## BIBLIOGRAFIA

- BUREN, L.L.; MOCK, J.J. & ANDERSON, I.C. 1974. Morphological and physiological traits in maize associated with tolerance to high plant density. *Crop Sci.*, 14:426-429.
- CARDOSO, C.O.N.; CARDOSO, E.J.B.N.; TOLEDO, A.C.D.; KIMATI, H. & SOAVE, J. 1976. Guia de fungicidas. São Paulo, Summa Phytopathologica. 209p.
- COLLINS, W.K.; RUSSEL, W.A. & EBERHART, S.A. 1965. Performance of two-ear type of corn belt maize. *Crop Sci.*, 5:113-116.
- DUVICK, D.N. 1974. Continuous backcrossing to transfer prolificacy to a single-eared inbred line of maize. *Crop Sci.*, 14:69-71.
- ELLIOTT, C. & JENKINS, M.T. 1946. *Helminthosporium turcicum* leaf blight of corn. *Phytopathol.*, 36:660-666.
- GALLI, F.; TOKESHI, H.; CARVALHO, P.C.T.; BALMER, E.; KIMATI, H.; CARDOSO, C.O.N. & SALGADO, C.L. 1968. Doenças do milho, *Zea mays* L. In: \_\_\_\_\_, Manual de fitopatologia; doenças das plantas e seu controle. São Paulo, Agronômica Ceres. p.306-316 (Biblioteca Agronômica Ceres).
- GARDNER, C.O. & EBERHART, S.A. 1966. Analysis and interpretation of the variety cross diallel and related populations. *Biometrics*, 22: 439-452.
- GEVERS, H.O. 1975. A new major gene for resistance to *Helminthosporium turcicum* leaf blight of maize. *Pl. Dis. Reptr.*

59:296-299.

- HILU, H.M. & HOOKER, A.L. 1963. Monogenic chlorotic-lesion resistance to *Helminthosporium turcicum* in corn seedlings. *Phytopathol.*, 53:909-912.
- HILU, H.M. & HOOKER, A.L. 1964. Host-pathogen relationship of *Helminthosporium turcicum* in resistant and susceptible corn seedlings. *Phytopathol.*, 54:570-575.
- HOOKER, A.L. 1961. A new type of resistance in corn to *Helminthosporium turcicum*. *Pl. Dis. Repr.*, 45:780-781.
- HOOKER, A.L. 1963, a. Monogenic resistance in *Zea mays* L. to *Helminthosporium turcicum*. *Crop Sci.*, 3:381-383.
- HOOKER, A.L. 1963, b. Inheritance of chlorotic-lesion resistance to *Helminthosporium turcicum* in seedlings corn, *Phytopathol.*, 53:660-662.
- HOOKER, A.L. 1977. A second major gene locus in corn for chlorotic-lesion resistance to *Helminthosporium turcicum*. *Crop Sci.*, 17:132-135.
- HOOKER, A.L.; HILU, H.M.; WILKINSON, D.R. & VAN DYKE, C.G. 1964. Additional sources of chlorotic-lesion resistance to *Helminthosporium turcicum* in corn. *Pl. Dis. Repr.*, 48: 777-780.
- HOOKER, A.L. & KIM, S.K. 1973. Monogenic and multigenic resistance to *Helminthosporium turcicum* in corn. *Pl. Dis. Repr.*, 57:586-589.
- HUGHES, G.R. & HOOKER, A.L. 1971. Gene action conditioning resistance to Northern leaf blight in maize. *Crop Sci.*,

11:180-184.

- JENKINS, M.T. & ROBERT, A.L. 1952. Inheritance of resistance to the leaf blight of corn caused by *Helminthosporium turcicum*. *Agron. Jour.*, 44:136-140.
- JENKINS, M.T. & ROBERT, A.L. 1961. Further genetic studies of resistance to *Helminthosporium turcicum* Pass. in maize by means of chromosomal translocations. *Crop Sci.*, 1:450-455.
- JENKINS, M.T.; ROBERT, A.L. & FINDLEY Jr., W.R. 1952. Inheritance of resistance to *Helminthosporium turcicum* leaf blight in populations of F<sub>3</sub> progenies. *Agron. Jour.*, 44:438-442.
- JENNINGS, P.R. & ULLSTRUP, A.L. 1957. A histological study of three *Helminthosporium* leaf blights of corn. *Phytopathol.*, 47:707-714.
- LANDRY, J. & MOUREAUX, T. 1970. Hétérogénéité des glutelines du grain du maïs. Extraction sélective et composition en acides aminés des trois fractions isolées. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 52:1021-1037.
- NELSON, R.R.; ROBERT, A.L. & SPRAGUE, G.F. 1965. Evaluating genetic potentials in *Helminthosporium turcicum*. *Phytopathol.*, 55:418-420.
- SHURTLEFF, M.C.; HOLDEMAN, Q.; HORNE, C.W.; KOMMEDAHL, T.; MARTINSON, C.A.; NELSON, R.R.; SCHIEFLE, G.C.; WEIHING, J.L.; WILKINSON, D.R.; WOLF, G.L.; WYSONG, D.S.; SMITH, H.E. 1973. A compedium of corn diseases. St. Paul, Minn., Am. Phytopathol. Soc., p. 14-15 (Maize corn).
- ULLSTRUP, A.L. 1970. A comparison of monogenic and polygenic

resistance to *Helminthosporium turcicum* in corn. *Phytopathol.*, 60:1597-1599.

ULLSTRUP, A.L.; HOPPE, P.E. & ELLIOTT, C. 1945. Report of the committee on methods for reporting corn disease ratings. U.S. Dept. Agr., Agr. Res. Admin., Bur. Plant Indus., Soils, and Agr. Engin., Div. Cereal Crops and Dis. 23CC., 5p.

ULLSTRUP, A.L. & MILES, S.R. 1957. The effects of some leaf blights of corn on grain yield. *Phytopathol.*, 47:331-336.

VILLEGAS, E. & MERTZ, E. 1971. Chemical screening methods for maize protein quality at CIMMYT. *Research Bulletin of CIMMYT*, n<sup>o</sup>-20.

VIDHYASEKARAN, P. & RAMADOSS, N. 1973. Quantitative and qualitative losses in paddy due to helminthosporiose epidemic. *Indian Phytopathol.*, 26:479-484.

VIDHYASEKARAN, P.; RAMADOSS, N.; RANGANATHANAND, K. & KHISHNASAMY, V. 1973. Increase in protein content of rice due to helminthosporiose infection. *Indian Phytopathol.*, 26:736-738.