

PERFORMANCE DE LINHAGENS DE MILHO-PIPOCA QUANTO A
RESISTÊNCIA À HELMINTOSPORIOSE (*Bipolaris maydis*) E AOS
ATRIBUTOS AGRONÔMICOS

JULIO CESAR GRADICE SALUCI

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE
DARCY RIBEIRO

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
MARÇO – 2019

PERFORMANCE DE LINHAGENS DE MILHO-PIPOCA QUANTO A
RESISTÊNCIA À HELMINTOSPORIOSE (*Bipolaris maydis*) E AOS
ATRIBUTOS AGRONÔMICOS

JULIO CESAR GRADICE SALUCI

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Vivas

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
MARÇO – 2019

FICHA CATALOGRÁFICA

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pelo autor.

S181 Saluci, Júlio Cesar Gradice.

PERFORMANCE DE LINHAGENS DE MILHO-PIPOCA QUANTO A RESISTÊNCIA À HELMINTOSPORIOSE (*Bipolaris maydis*) E AOS ATRIBUTOS AGRONÔMICOS / Júlio Cesar Gradice Saluci. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2019.

70 f.

Bibliografia: 51 - 57.

Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2019. Orientador: Marcelo Vivas.

1. Melhoramento Vegetal. 2. Milho-pipoca. 3. Linhagens homozigotas. 4. Helmintosporiose. 5. Resistência Genética. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 630

PERFORMANCE DE LINHAGENS DE MILHO-PIPOCA QUANTO A
RESISTÊNCIA À HELMINTOSPORIOSE (*Bipolaris maydis*) E AOS
ATRIBUTOS AGRONÔMICOS

JULIO CESAR GRADICE SALUCI

Dissertação apresentada ao Centro de
Ciências e Tecnologias Agropecuárias da
Universidade Estadual do Norte Fluminense
Darcy Ribeiro, como parte das exigências
para obtenção do título de Mestre em
Produção Vegetal.

Aprovada em 11 de março de 2019

Comissão Examinadora



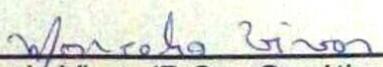
Prof. Dr. João Batista Esteves Peluzio (D.Sc., Genética e Melhoramento) –
Ifes-Campus de Alegre



Prof. Dr. Antonio Teixeira do Amaral Júnior (D.Sc., Genética e Melhoramento) –
UENF



Dr. Pedro Henrique Dias dos Santos (D.Sc., Produção Vegetal) – UENF



Prof. Dr. Marcelo Vivas (D.Sc., Genética e Melhoramento de Plantas) – UENF
(Orientador)

Dedico...

Aos meus pais, José Vicente Saluci e Angela Maria Gradice Saluci.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, em primeiro, pela sua constate presença em minha vida. Pelas perceptíveis ajudas, sobretudo, nos momentos de dificuldades pessoais, familiares e profissionais.

Aos meus pais, José Vicente Saluci e Angela Maria Gradice Saluci e a minha irmã Josilaine Gradice Saluci Moraes, pela força e confiança em mim depositadas para a conclusão deste curso. Agradeço pelos conselhos passados durante esse período e, principalmente, pelo amor, carinho e educação.

A todos os demais familiares e amigos que me apoiaram e contribuíram para a realização deste sonho.

Agradeço à Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal (PGPV) e ao Laboratório de Engenharia Agrícola (LEAG), pela oportunidade de realização deste curso.

Ao meu orientador, Professor Doutor Marcelo Vivas, pelas sugestões realizadas para este trabalho, pelos incentivos e ensinamentos passados ao longo do curso.

Ao professor Doutor João Batista Esteves Peluzio, que foi meu orientador no trabalho de conclusão de curso, pela amizade, ensinamentos, conselhos, incentivos e contribuições ao longo da minha graduação. Agradeço pela participação e contribuições também no desenvolvimento deste trabalho.

Ao professor Dr. Antônio Teixeira do Amaral Júnior e ao Dr. Pedro Henrique Dias dos Santos, pela participação e pelas contribuições realizadas nas diferentes etapas deste trabalho.

Aos profissionais do Instituto Federal do Espírito Santo – Campus Alegre, pela parceria e disponibilidade de recursos para a condução de parte dos experimentos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) pela concessão da bolsa.

A todos os colegas de Laboratório que estiveram comigo, juntos, nesta caminhada. Enfim, a todas as pessoas que contribuíram, direta e indiretamente, para a conclusão deste trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1 Aspectos gerais da cultura do milho-pipoca	4
2.2. Melhoramento do milho-pipoca	6
2.3. Doenças foliares de ocorrência na cultura	7
2.3.1. Helmintosporiose (<i>Bipolaris maydis</i>)	7
2.4. Interação patógeno-hospedeiro e resistência genética ao <i>Bipolaris maydis</i>	9
3. TRABALHOS	11
3.1 POTENCIAL DE LINHAGENS S ₄ DE MILHO-PIPOCA QUANTO A RESISTÊNCIA À <i>Bipolaris maydis</i>	11
3.1.1. RESUMO.....	11
3.1.2. ABSTRACT.....	12
3.1.3. INTRODUÇÃO	13
3.1.4. MATERIAL E MÉTODOS	15
3.1.5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	18
3.1.6. CONCLUSÕES	23
3.1.7. REFERÊNCIAS	24

3.2. DESEMPENHO <i>per se</i> DE LINHAGENS S ₇ DE MILHO-PIPOCA QUANTO A REAÇÃO A HELMINTOSPORIOSE (<i>B. maydis</i>) AVALIADAS EM CAMPO	29
3.2.1. RESUMO	29
3.2.2. ABSTRACT	30
3.2.3. INTRODUÇÃO	31
3.2.4. MATERIAL E MÉTODOS	33
3.2.5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	37
3.2.6. CONCLUSÕES	45
3.2.7. REFERÊNCIAS	46
4. RESUMO E CONCLUSÕES.....	49
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51

RESUMO

SALUCI, Julio Cesar Gradice Saluci, M.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, março de 2019. Performance de linhagens de milho-pipoca quanto a resistência à Helmintosporiose (*Bipolaris maydis*) e aos atributos agronômicos. Orientador: Prof. Marcelo Vivas.

Por um lado, o milho-pipoca é uma excelente opção de cultivo agrícola, haja vista que a grande demanda existente por esse produto o torna rentável e competitivo, dentre as demais opções. Por outro lado, comparado ao milho comum, o milho-pipoca mostra-se mais suscetível ao ataque de pragas. Dentre as doenças que afetam a cultura está a Helmintosporiose, causada pelo fungo *Bipolaris maydis* que pode causar danos a cultura e, portanto, prejuízos econômicos significativos. O principal método de controle dessa doença faz-se pelo uso de genótipos resistentes. Assim, o objetivo da presente investigação foi avaliar linhagens de milho-pipoca de diferentes genealogias quanto à resistência ao *Bipolaris maydis* e aos atributos agronômicos. Para tal, dois experimentos foram conduzidos: i). No primeiro, com o objetivo de avaliar o potencial de linhagens S₄ de diferentes genealogias foram estudadas 78 linhagens no delineamento de blocos aumentados, utilizando 6 testemunhas e 4 repetições. Tal experimento foi conduzido em casa de vegetação e as plantas foram cultivadas em vasos plásticos preenchidos com 5 litros de substrato. A inoculação do patógeno se deu utilizando suspensão de 2×10^4 conídios.mL⁻¹ quando as plantas atingiram o estágio V4. Sete dias após a inoculação, quantificou-se a incidência de folhas com sintomas da

doença. Entre o sétimo e décimo quarto dia após a inoculação, determinou-se a severidade da doença na folha. Para a severidade na folha, houve um efeito estatístico significativo para ambas as avaliações. Na primeira avaliação, observou-se que 83,3% das linhagens apresentaram médias estatisticamente iguais a zero, já na segunda, conduzida no décimo quarto dia, a porcentagem reduziu para 37,2%. Conclui-se que dentre as linhagens avaliadas existem fontes de resistência a *Bipolaris maydis*. ii) O segundo experimento foi conduzido no delineamento de blocos casualizados, sendo avaliadas 35 linhagens S₇ em quatro repetições. Cada unidade experimental foi composta por três linhas de 2 metros com 11 plantas cada, espaçadas de 0,2 m x 0,9 m, entre plantas e linhas, respectivamente. As avaliações da doença foram realizadas duas semanas após o florescimento das plantas, quando verificou-se a incidência de folhas com sintomas da doença (IBP), severidade na planta (SBP) e severidade na folha anexa à espiga (SBF). Ao final do ciclo, as espigas foram colhidas e posteriormente, foram realizadas avaliações de rendimento de grãos (RG) e capacidade de expansão (CE). Verificou-se diferença estatística significativa entre os tratamentos, indicando a existência de variabilidade entre as linhagens para todas as variáveis analisadas. Observou-se a formação de 4 grupos para IBP, onde o grupo superior compreendeu as linhagens L624; L623 e L55, com médias inferiores a 40% de incidência. Para SBP e SBF, constatou-se a formação de três grupos, onde 28,57% das linhagens apareceram no grupo superior em ambas as variáveis, e suas médias foram iguais a zero pelo teste t. Quanto ao desempenho agrônômico, as linhagens L70, L292, L682 e L55 se destacaram com resultados satisfatórios para RG e CE. Concluiu-se que foi possível identificar linhagens como fontes de resistência ao *B. maydis* com bom potencial agrônômico.

ABSTRACT

SALUCI, Julio Cesar Gradice Saluci, M.Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, março de 2019. Performance of popcorn lineages for resistance to Southern corn leaf blight (*Bipolaris maydis*) and agronomic attributes. Advisor: Prof. Marcelo Vivas.

Popcorn is an excellent option for agricultural cultivation; for having a high demand in the market, it becomes a profitable and competitive product. On the other hand, in comparison to common maize, popcorn is more susceptible to pests. Caused by the *Bipolaris maydis* fungus, Southern corn leaf blight is among the diseases that can damage crops and thus cause significant economic losses. The use of resistant genotypes is the major method of controlling this disease. As such, this study sought to evaluate popcorn lines from different genealogies regarding resistance to *Bipolaris maydis* and agronomic traits. To this end, two experiments were conducted. In the first, in order to evaluate the potential of S₄ lines of different genealogies, 78 lines were studied in the augmented block design, using 6 controls and 4 replicates. Such experiment was conducted in a greenhouse, and plants were cultivated in plastic pots filled with five liters of substrate. The pathogen was inoculated using a suspension of 2x10⁴ conidia.mL⁻¹ when plants reached the V4 stage. Seven days after inoculation, the incidence of leaves with symptoms of the disease was quantified, and, between the seventh and the fourteenth day after inoculation, the disease severity in leaves was determined. For severity in leaves, there was a significant statistical effect for both evaluations. The first evaluation

showed that 83.3% of the lines presented means statistically equal to zero; the second one, performed on the fourteenth day, reported a percentage reduction to 37.2%. It was concluded that, among the evaluated lines, there are sources of resistance to *Bipolaris maydis*. The second experiment was carried out in a randomized block design, evaluating 35 S₇ lines in four replicates. Each experimental unit consisted of three 2-meter lines with 11 plants each, spaced 0.2 m x 0.9 m between plants and lines, respectively. Evaluations of the disease were carried out two weeks after flowering, during which the incidence of leaves with symptoms of the disease (IBL), severity in plant (SBP), and severity in leaf attached to the ear (SBL) were detected. After the cycle, the ears were harvested and later evaluations of grain yield (GY) and expansion capacity (EC) were conducted. A significant statistical difference was found between treatments suggesting the existence of variability among lines for all variables under analysis. Four groups were formed for IBL, in which the superior group included the L624; L623; and L55 lines, with means less than 40% incidence. Three groups were formed for SBP and SBL, in which 28.57% of lines were found in the superior group in both variables, and their means were equal to zero according to the t test. In terms of agronomic performance, L70, L292, L682 and L55 lines were highlighted with positive results for GY and EC. The study revealed that it could be possible to identify lines as sources of resistance to *B. maydis* with good agronomic potential.

1. INTRODUÇÃO

O milho-pipoca é um grão dos tipos especiais, cuja principal característica é a presença de amido cristalino com capacidade de se expandir quando aquecido, transformando-se em uma massa pouco consistente composta de amido e fibras chamada de pipoca (Araújo et al., 2011). Ela, por sua vez, é uma guloseima mundialmente apreciada, sendo consumida em diversas situações no cotidiano, por pessoas de diversos países, especialmente no Brasil, onde o consumo é elevado (Andrade et al., 2002; Rodovalho et al., 2008).

Entre as pesquisas brasileiras, as informações sobre a quantidade de milho-pipoca produzido e consumido ainda são poucas, estimando-se que o consumo situa-se em torno de 70 a 80 mil toneladas anualmente (Rodovalho et al., 2008; Santos et al., 2008), sendo atribuído um relativo aumento ao longo dos últimos anos, devido à popularização de eletrodomésticos como os aparelhos de microondas e pipoqueiras (Rinaldi et al., 2007; Mendes de Paula et al., 2010).

Embora o país tenha se destacado quanto a produção de milho comum, demonstrando assim sua aptidão ao cultivo dessa espécie, o mesmo não ocorre com o milho-pipoca. A produção nacional ainda não é suficiente para atender a total demanda por esse alimento, sendo necessária a sua importação, que se dá, em maior volume, da Argentina e dos Estados Unidos da América (Scapim et al., 2006). A importação é atribuída, principalmente, a baixa produtividade das lavouras em consequência da falta de cultivares adaptadas as diferentes áreas de cultivos. Até a safra dos anos de 2003/04 era comum os agricultores semear suas próprias

sementes, que em geral, eram derivadas de cultivares locais. Nas safras seguintes, com o desenvolvimento do híbrido IAC-112 e as parcerias entre empresas empacotadoras e produtores, o cenário de importação começou ser modificado, passando a diminuir a importação nos anos posteriores (Scapim et al., 2006; SENASA, 2018).

Mesmo com os avanços obtidos, ainda existem barreiras que restringem o desenvolvimento da cultura. Características da espécie, como: porte baixo das plantas; elevado percentual de acamamento; cultivares com baixo potencial produtivo e; elevada incidência de pragas, são os principais desafios a serem superados (Sawaki, 2001). Entre as doenças com potencial para causar danos econômicos, destaca-se a Helmintosporiose, causada pelo patógeno *Bipolaris maydis* (Nisik. & Miyake), Shoemaker [sinônimos: *Helminthosporium maydis* Nisikado & Myiake e *Drechslera maydis* (Nisikado) Subramanian & P.C. Jain)] - forma teliomórfica *Cochliobolus heterostrophus* (Dreschsler) Dreschsler. Este patógeno, pode causar lesões foliares, provocando redução do tecido fotossintético, impactando em redução da produtividade (Nihei e Ferreira, 2012).

Assim, a resistência genética das plantas tem sido a principal forma de controle do *B. maydis*, estratégia de controle a qual representa a forma mais eficaz para diminuir os prejuízos causados por doenças em plantas (Von Pinho et al., 2001). Vale ainda destacar que até o presente momento nenhum produto químico encontra-se registrado no Ministério da Agricultura para ser utilizado contra esse patógeno. Tal cenário reforça a necessidade de estudos visando o desenvolvimento de genótipos resistentes, produtivos e com alta capacidade de expansão.

No entanto, as informações referentes ao patossistema do milho-pipoca e *B. maydis* ainda são restritas, pouco se sabe sobre aspectos de resistência para essa doença, além do que, existem diferentes raças do fungo que afetam a cultura dificultando assim, o entendimento dos mecanismos genéticos de resistência (Casela et al., 2006). Desse modo, a avaliação de linhagens endogâmicas e parcialmente endogâmicas oriundas de genealogias vindas de países com diferentes características edafoclimáticas podem revelar fontes de resistência ao *B. maydis*.

Para ampliar o conhecimento a respeito dessa doença e da interação planta-patógeno, faz-se necessário os estudos de base, tal como identificar as fontes de resistência ao patógeno. Para tanto, trabalhos de avaliação de materiais

contidos em bancos de germoplasma parecem uma boa opção para o conhecimento da variabilidade genética a respeito da resistência de plantas de milho-pipoca ao *B. maydis*.

Diante do exposto o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de linhagens de milho-pipoca quanto à resistência a Helmintosporiose e aos atributos agronômicos e indicar alguns materiais genéticos para serem testados em cruzamentos para geração de híbridos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Aspectos gerais da cultura do milho-pipoca

O milho-pipoca, grão cujo nome científico é *Zea mays everta*, apresenta como características marcantes as sementes duras, pequenas e destacadamente, a capacidade de pipocamento ou expansão dos grãos, quando aquecidos (Pereira Filho et al., 2010). Suas características botânicas são semelhantes a do milho comum. Entretanto, as plantas apresentam porte menor, colmo mais fino e fraco, tornando-as mais vulneráveis ao acamamento. São mais suscetíveis a pragas, possuem maior prolificidade, menor número de folhas e, grãos que podem ser redondos, chatos, ou pontiagudos (Zinsly e Machado, 1987, Sawasaki, 2001).

Entre os países que maiores produtores de milho-pipoca destaca-se os Estados Unidos da América (EUA), com cerca de 88 mil hectares de área plantada e produção anual média em torno de 356 mil toneladas, com produtividade média de 4 t ha⁻¹. Tamanho produção é dada em virtude do alto consumo que é de aproximadamente 43 litros de pipoca por pessoa anualmente (USDA, 2014; POPCORN, 2019). Além, é claro, das exportações, que têm também como destino, o Brasil.

No território brasileiro, as informações quanto à cultura, produção, produtividade e consumo do milho-pipoca são escassas. Elas, na maioria dos casos ficam retidas nas empresas privadas; somando-se ainda ao fato de os levantamentos de safras realizados pelos órgãos públicos serem obtidos em

conjunto com o milho comum (Coan et al., 2018). Contudo, nos últimos anos, o mercado nacional de milho-pipoca passou por uma importante mudança. Dois fatores podem ser destacados para tal ocorrido: i) as parcerias entre empresas empacotadoras dos grãos e produtores, fato que incentivou e impulsionou o aumento do número de produtores do grão no país e ii) a produção, e o melhoramento genético da cultura, ofertando materiais mais adaptados.

Até a safra agrícola 2003/04, produtores cultivavam suas próprias sementes, que apresentavam baixo desempenho agrônômico. Havia também um desestímulo para a cultura devido, principalmente, ao grande volume de grãos importados, cerca de 75% do total consumido. A importação se dava em maior escala dos EUA e da Argentina, sendo mais baratos e de melhor qualidade, desvalorizando o produto nacional (Freitas Júnior et al., 2006).

Nas safras seguintes, percebeu-se uma mudança nesse cenário, quando as parcerias entre empresas e produtores e a ampla utilização do híbrido IAC-112 e de híbridos americanos, impulsionaram no aumento da produção e na qualidade do milho-pipoca brasileiro. No ano agrícola 2004/05 as importações começaram a diminuir, de modo que apenas 20 mil toneladas de um total estimado de 70 a 80 mil consumidos vieram de outros países (Scapim et al., 2006). Para a safra de 2008/09 sete cultivares de milho-pipoca foram disponibilizadas para comercialização nomeados como: Zélia (híbrido triplo), Jade (híbrido triplo), IAC 112 (híbrido simples modificado), IAC 125 (híbrido triplo), BRS Angela (variedade), RS-20 (variedade) e UFVM2-Barão-Viçosa (variedade) (Scapim et al., 2010).

Com o desenvolvimento de novas cultivares e o aumento das áreas plantadas, as importações seguiram em constante redução. Em 2011, foram importadas 12 mil toneladas de grãos da Argentina, 5,1 mil t em 2012, 6,7 mil toneladas em 2013 e 2,83 t em 2014 (SENASA, 2018). Em 2015, houve um aumento considerável na oferta de cultivares, estando disponíveis 69, sendo, em grande parte materiais desenvolvidos no exterior e mantidos no Brasil sob domínio de empresas privadas. Apenas as cultivares RS 20, IAC-112, IAC-125, BRS-Angela, UFVM2, POP TOP, UENF-14 e UENF-UEM 01, foram de origem nacional (Coan et al., 2018).

Embora tenha ocorrido grande progresso na cultura do milho-pipoca, ainda justifica-se a necessidade de se desenvolver cultivares nacionais a fim de alcançar melhor desempenho produtivo, maior capacidade de expansão dos grãos, plantas

mais adaptadas as condições edafoclimáticas do país, além da resistência às principais doenças que afetam o milho-pipoca.

2.2. Melhoramento do milho-pipoca

A necessidade de desenvolver materiais para a cultura de milho-pipoca melhorado passa pelo objetivo de produtores e consumidores. Existe uma constante busca por alto rendimento de grãos associado à qualidade da pipoca, que deve apresentar boa capacidade de expansão, maciez e, textura. Uma das dificuldades do melhoramento dessa cultura está na correlação negativas entre as principais características (capacidade de expansão e rendimento de grãos), dificultando a seleção de genótipos e, conseqüentemente, a obtenção de novos materiais (Freitas et al., 2013). No entanto, essa dificuldade tem sido superada por pesquisas que buscam melhorar a produção.

Os métodos adotados para o milho-pipoca, são semelhantes aos do milho comum, podendo ser empregados métodos de melhoramento de populações como a seleção recorrente. Nesse caso, tem sido utilizado o método intrapopulacional, principalmente pelo efeito gênico aditivo associado a capacidade de expansão e pela baixa diversidade no milho-pipoca brasileiro (Pacheco et al., 1998; Pereira e Amaral Júnior, 2001); como também, pode ser utilizada as estratégias de obtenção de híbridos (Zinsly e Machado, 1987; Coan et al., 2018).

A condução de populações pelo método intrapopulacional é uma opção vantajosa, além da eficiência em melhorar a população de trabalho, aumentando a frequência dos alelos favoráveis sem perda em variabilidade. A nova população pode também ser utilizada para extração de linhas puras para obtenção de híbridos, assim, os dois métodos podem ser desenvolvidos de forma conjunta (Vilarinho et al., 2003). Entre as instituições que atuam no melhoramento de milho-pipoca no Brasil podem ser destacadas a Embrapa Milho e Sorgo, a Universidade Federal de Viçosa (UFV), a Universidade Estadual de Maringá (UEM), o Instituto agrônomo de Campinas (IAC), a Universidade Estadual de Londrina (UEL), a Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) e a Universidade Federal do Cariri (UFCA).

A grande maioria dessas instituições tem se destacado com resultados promissores para essa cultura. Na região noroeste do Estado do Rio de Janeiro, a

UENF vem trabalhando no sentido de desenvolver cultivares adaptada a região, dando novas opções de diversificação agrícola para os agricultores do estado. O trabalho que vem sendo realizado desde 1998, conta com bons frutos, entre eles o lançamento da cultivar UENF-14 (variedade de polinização aberta), o registro de híbridos, além do desenvolvimento de um elevado número de linhagens endogâmicas (Pereira e Amaral Júnior 2001, Amaral Júnior et al., 2013).

Entre os objetivos e trabalhos do programa, encontra-se a seleção recorrente na população UNB-02, hoje denominada UENF-14; cruzamentos dialélicos e *testcrosses* entre linhagens e populações, buscando obtenção de híbridos superiores; melhoramento buscando eficiência a estresses bióticos e abióticos, como a resistência a ambientes com baixo fósforo ou nitrogênio, resistência ao *déficit* hídrico e, o melhoramento buscando resistência as doenças de relevância para a cultura, como a resistência a *Fusarium* nos grãos e, a doenças foliares como a Helmintosporiose causado pelo *Bipolaris maydis* (Kurosawa et al., 2017; Santos et al., 2017; Schwantes et al., 2017; Kamphorst et al., 2018).

2.3. Doenças foliares de ocorrência na cultura

Na cultura do milho-pipoca, as plantas são acometidas pelas mesmas doenças que ocorrem no milho comum, apresentando alta suscetibilidade, principalmente, às doenças foliares (Arnhold, 2008). Os principais patógenos com potencial para causar danos econômicos são: a *Cercospora zea-maydis* (Tehon e Daniels), a *Puccinia polysora* (Underw), o *Exserohilum turcicum* (Pass.) (K. J. Leonard e E. G. Suggs) e, o *Bipolaris maydis* (Nisik. e Miyake) Shoemaker (Casela et al., 2006; Sabato et al., 2013; Santos et al., 2017).

2.3.1. Helmintosporiose (*Bipolaris maydis*)

A infecção e desenvolvimento desse patógeno nas plantas de milho ocorrem com diferentes intensidades, variando em função do grau de resistência do hospedeiro, do sistema de manejo da lavoura e das condições climáticas durante o cultivo (Reis et al., 2004). Em milho-pipoca, considerado mais susceptível em relação ao milho comum, os danos são, em geral, mais acentuados, portanto,

essa doença deve ser considerada de grande importância para essa cultura (Oliveira et al., 2004).

A Helmintosporiose pode ser causada por três diferentes raças morfológicamente semelhantes de *B. maydis*: as raças T, O e C. As raças T e C são patogênicas somente a genótipos de milho com citoplasma macho-estéril “T” e “C”, respectivamente. Ao mesmo tempo, a raça “O” causa danos em qualquer tipo de genótipo (Costa et al., 2014). A sintomatologia apresentada pelas raças do patógeno possuem poucas diferenças entre si. A raça “T” corresponde a lesões ovais e levemente maiores que as causadas pela raça “O”, e apresenta uma borda de coloração marrom escura, causando lesões em toda a parte das plantas. Os sintomas causados pela raça “C” são caracterizados por lesões, estreitas, alongadas e necróticas (Costa et al., 2014). No entanto, para milho-pipoca. Ainda pouco se sabe sobre a distribuição das raças de *B. maydis* no Brasil.

A disseminação dos conídios do fungo ocorre, principalmente, pelos pingos de chuva e pelo vento, uma vez contaminada, a planta apresenta lesões foliares com cor de palha seca e com formato retangular, limitada pelas nervuras. Seu desenvolvimento é favorecido por temperaturas entre 22°C e 30°C e elevada umidade relativa do ar (Casela et al., 2006; Martinez et al., 2010).

No milho comum, alguns trabalhos tem demonstrado que essa doença tem alto potencial de prejuízo econômico, e tem ocorrido sistematicamente em países como Brasil, Índia, Paquistão, Estados Unidos entre outros (Casela et al., 2006; Altaf et al. 2016; Singh et al., 2018). Reduções na ordem de 40% da produtividade foram identificadas por Byrnes et al., (1989), nos Estados Unidos da América. Pesquisas de Hussain et al. (2016) no Paquistão, demonstraram que havia diferenças significativa para o rendimento de grãos, com inoculação do patógeno em diferentes momentos do crescimento das plantas de milho.

Na cultura do milho-pipoca ainda não foram quantificadas perdas diretamente associadas ao *B. maydis*, havendo necessidade de estudos de base visando a identificação de fontes de resistência, não só para trabalhos de melhoramento, como também para caracterização da variabilidade do patógeno.

2.4. Interação patógeno-hospedeiro e resistência genética ao *Bipolaris maydis*

As plantas estão sujeitas a sofrerem com injúrias causadas por diferentes microrganismos patogênicos e em distintas intensidades, principalmente as espécies agrícolas, quando as perdas da cultura, constantemente, atingem patamares suficientes para causar prejuízos econômicos. Diversas estratégias podem ser utilizadas a fim de contornar esse problema, mesmo assim, a capacidade de defesa ligada a resistência genética do hospedeiro é a principal ferramenta a ser explorada. Essa ferramenta é definida como um mecanismo da planta hospedeira que pode impedir ou retardar o desenvolvimento da doença (Carvalho e Barcellos, 2012).

Os mecanismos de defesa das plantas são divididos em dois grupos, cada um com ações em momentos diferentes. No primeiro momento, um conjunto de receptores atuam no reconhecimento de padrões moleculares associados ao patógeno. Uma vez reconhecido, a planta desencadeia o processo de resposta, geralmente com alterações da parede celular e acúmulo de proteínas relacionadas à defesa que afetam negativamente a colonização por microrganismos (Wit, 2007; Nurnberger et al., 2004; Jones e Dangl, 2006). Esse caso é associado à resistência qualitativa, governada por poucos genes, também descrita como resistência medida por gene R (Camargo, 2018a).

Em um segundo momento, quando o patógeno superou a defesa primária e iniciou o processo de colonização, outros mecanismos de defesa da planta são ativados. No entanto, ocorrem tardiamente e são dependentes dos alelos que estão presentes no hospedeiro. Considerando o tempo de reação no segundo momento de defesa e a constituição alélica da planta, a resistência pode ser apresentada em diferentes níveis (Camargo, 2018b). Esta forma de resistência está associada à herança de caráter quantitativo, ou seja, a resistência ocorre pelo efeito do somatório da ação de vários genes com pouca influência no fenótipo. No entanto, cada um desses genes têm capacidades peculiares de reduzir a intensidade da doença.

A suscetibilidade das plantas de milho ao *Bipolaris maydis* varia em decorrência da raça do patógeno e do controle genético associado a elas. A resistência às raças “T” e “C” está relacionada aos genes que conferem citoplasma macho-estéril CMS-T e CMS-C, respectivamente. Ao tempo em que a presença

desses genes confere macho-esterilidade às plantas, também as tornam susceptíveis a essas duas raças. Historicamente, a utilização da macho-esterilidade na obtenção de materiais genéticos provocou um surto dessa doença, ocasionando perdas significativas na produção de milho nos EUA no ano de 1970 (Costa et al., 2014).

A terceira raça identificada, a raça “O”, é descrita com potencial de infecção a qualquer tipo de genótipo. A resistência a essa raça tem sido descrita como quantitativa de ação gênica dominante (Lim e Hooker, 1976; Burnette e White, 1985; Kump et al., 2011). Com isso, as plantas de milho podem apresentar diferentes níveis de resistência a essa raça. Neste caso, a identificação das fontes de resistência ao patógenos com essa forma de controle genético se dá, então, pela quantificação da doença nas plantas. Nesse caso recomenda-se o uso de escalas diagramáticas ou chaves de avaliação, e é indispensável o conhecimento sobre patometria para se obter estimativas precisas da resistências dos genótipos das doenças (Camargo, 2018b).

3. TRABALHOS

3.1. POTENCIAL DE LINHAGENS S₄ DE MILHO-PIPOCA QUANTO A RESISTÊNCIA À *Bipolaris maydis**

3.1.1. RESUMO

A cultura do milho-pipoca se destaca pela sua maior rentabilidade em relação ao milho comum. Entretanto, carece de informações e de materiais genéticos resistentes às doenças foliares de ocorrência na cultura. Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar linhagens S₄ de milho-pipoca provenientes de diferentes genealogias, quanto a resistência à *B. maydis*. O experimento foi realizado em casa-de-vegetação no delineamento de blocos aumentados, com quatro blocos, sendo avaliadas 78 linhagens obtidas de 13 genealogias. As linhagens L-55, L-70, L-77, L-88, P-01 e P-08 foram consideradas testemunhas, sendo repetidas em todos os blocos. Avaliou-se a incidência do *B. maydis* na planta aos 7 dias e a severidade na folha, aos 7 e 14 dias após a inoculação. Os dados obtidos das linhagens foram submetidos à análise de variância e as médias discriminadas pelo teste T de Student, sendo consideradas resistentes às linhagens cuja as médias não diferiram de zero. Visando avaliar os méritos das populações originárias das linhagens, agrupou-se de acordo com cada genealogia as linhagens

* Parte da dissertação de mestrado submetida à revista Functional Plant Breeding Journal - FPBJ

S₄ por meio de gráficos Bloxplot. Para a severidade na folha, houve efeito significativo para ambas as avaliações, demonstrando variabilidade entre as diferentes linhagens. Na primeira avaliação, aos sete dias após a inoculação, observou-se que 83,3 % das linhagens apresentaram médias estatisticamente iguais a zero; aos quatorze dias, a porcentagem reduziu para 37,2 %. Considerando a segunda avaliação de severidade, foi possível identificar linhagens resistentes ao *B. maydis* em 69,2% das genealogias estudadas.

Palavras-chave: Melhoramento vegetal, Resistência genética, Helmintosporiose.

3.1.2. ABSTRACT

Popcorn crop is distinguished by its higher profitability in relation to common maize. But this culture lacks information and genetic materials resistant to leaf diseases. For this reason, this paper intended to evaluate S₄ popcorn lines, from different genealogies, for resistance to *B. maydis*. The experiment was performed in a greenhouse in augmented block design with four blocks, and 78 lines from 13 genealogies were evaluated. L-55, L-70, L-77, L-88, P-01, and P-08 lines were considered controls and were replicated in all the blocks. The incidence of *B. maydis* in plants was analyzed at seven days and leaf severity at seven and 14 days after inoculation. Data from the lines were submitted to analysis of variance, and the means were classified by the Student t test, being considered resistant to the lines in which the means did not differ from zero. The S₄ lines were grouped, by each genealogy, using Boxplot graphs to evaluate the merits of the populations originated from the lines. There was a significant effect on leaf severity in both evaluations, demonstrating variability between the different lines. In the first evaluation, seven days after inoculation, it could be seen that 83.3% of the lines displayed means statistically equal to zero; at fourteen days, the percentage decreased to 37.2%. After the second evaluation of severity, lines resistant to *B. maydis* were identified in 69.2% of the genealogies studied.

Keywords: plant breeding, genetic resistance, Southern corn leaf blight.

3.1.3. INTRODUÇÃO

Dentre os chamados “milhos especiais” o milho-pipoca se destaca pela alta rentabilidade, sendo responsável por influenciar diversos setores da economia vinculados ao agronegócio, além de ser um alimento com alta qualidade nutricional e funcional, destinado exclusivamente ao consumo humano (Freitas et al., 2013; Paraginski et al., 2016).

Embora o Brasil seja o segundo maior produtor de milho-pipoca, sua produção não atende ao mercado consumidor interno; sendo, por conseguinte, uma das culturas com elevada perspectiva de crescimento no país (Conab, 2013). Embora se trate de um mercado promissor, o cultivo de milho-pipoca, tem sido alvo de poucos estudos a fim de otimizar sua produtividade. Dentre as alternativas para alcançar esse objetivo têm-se buscado desenvolver cultivares mais produtivas e capazes de gerar um produto final de melhor qualidade (Silva et al., 2013; Vittorazzi et al., 2013; Vieira et al., 2017; Guimarães et al., 2018). Dentre os desafios para alcançar tais objetivos, está a obtenção de genótipos mais adaptados a estresses bióticos e abióticos que afetam diretamente a produtividade da cultura (Kurosawa et al., 2017; Santos et al., 2017; Schwantes et al., 2017; Santos et al., 2017b; Gabriel et al., 2018; Coan et al., 2018).

Destaque especial deve ser dado para as doenças foliares, entre elas a *Cercospora zea-maydis* Tehon & Daniels, a *Puccinia polysora* Underw, a *Physopella zea* (Mains); Cummins & Ramachar, o *Exserohilum turcicum* (Pass). K. J. Leonard & E. G. Suggs, e, o *Bipolaris maydis* (Nisik. & Miyake), Shoemaker (Casela et al., 2006; Sabato et al., 2013; Santos et al., 2017). Tais doenças acometem as plantas destruindo tecidos foliares e diminuindo a área fotossintética, interferindo em caracteres relacionados à produtividade da cultura e qualidade dos grãos (Nihei e Ferreira, 2012). Dentre as doenças foliares, a Helmintosporiose, causada por *B. maydis*, tem despertado constante preocupação em lavouras de milho, principalmente em milho-pipoca, pela elevada severidade da doença em cultivos com genótipos susceptíveis (Huang et al., 2010; Altaf et al., 2016).

O melhoramento genético vegetal é uma importante estratégia de controle para a incidência de *B. maydis* em milho, permitindo a avaliação, seleção e

recombinação de genótipos resistentes ao patógeno (Mubeen et al., 2017). Em geral, os programas de melhoramento da cultura apresentam duas vertentes: a obtenção de populações melhoradas e a obtenção de híbridos; nos dois casos buscam-se materiais genéticos superiores aos ascendentes (Paterniani e Miranda Filho, 1978; Vilarinho et al., 2003 Arnhold, 2008). Neste sentido, trabalhos objetivando a avaliação e caracterização de genótipos são importantes para o conhecimento da variabilidade genética em bancos de germoplasmas, sobretudo no que se refere à resistência a doenças foliares para a cultura do milho-pipoca (Kurosawa et al., 2017). Um dos fatores limitantes para tais avaliações é que a aquisição e avaliação de linhagens endogâmicas, para a obtenção de híbridos na cultura, é um processo demorado que demanda grande investimento financeiro (Marcondes et al., 2015).

Neste aspecto, a avaliação e seleção empírica de linhagens parcialmente endogâmicas é uma alternativa viável para reduzir o número de famílias durante o estudo, economizando recursos. Outra forma é o uso de delineamentos que possibilitam avaliar de forma eficiente um grande número de materiais genéticos, mesmo com restrição de recursos e, ou, material genético (Peternelli et al., 2009; Ribeiro et al., 2016; Omar Junior et al., 2017). O delineamento de blocos aumentados permite a avaliação de tratamentos com uma única repetição no experimento, possibilitando a avaliação de um grande número de tratamentos; por conseguinte, possui grande importância para os programas de melhoramento vegetal. Inicialmente, foi desenvolvido para o melhoramento de cana-de-açúcar, mas tem sido utilizado com sucesso em outras culturas (Federer, 1956; Peternelli et al., 2009; Arnhold et al., 2010). Dessa forma acredita-se identificar linhagens de milho-pipoca parcialmente endogâmicas com elevados níveis de resistência ao *B. Maydis*.

Pelo exposto, o presente estudo teve por objetivo avaliar o potencial de linhagens S₄ de milho-pipoca provenientes de diferentes genealogias quanto à resistência a Helmintosporiose causada por *B. maydis* e indicar as genealogias com maior potencial de resistência.

3.1.4. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, em Campos dos Goytacazes, RJ. O experimento foi conduzido em uma casa de vegetação em delineamento de blocos aumentados de Federer (Federer, 1956), com 4 repetições e 6 testemunhas (a escolha do delineamento se deu por restrições quanto à quantidade de sementes disponíveis para plantio). Foram avaliadas 84 linhagens de milho-pipoca, sendo 6 linhagens - L-55, L-70, L-77, L-88, P-01, P-08 - consideradas testemunhas, repetidas em todos os blocos, e 78 linhagens em S₄, avaliadas em parcelas únicas casualizadas ao longo dos blocos (Tabela 1).

Na ocasião do estudo, foram alocados dentro da casa de vegetação vasos plásticos com capacidade para 5L, preenchidos com substrato a base de solo:areia:esterco de curral na proporção de 2:1:1. Foram plantadas 4 sementes em cada vaso e, após a emergência das plântulas, foi realizado o desbaste, eliminando plantas menos vigorosas até que se obtivessem duas plantas por recipiente, compondo, assim, uma unidade experimental.

A introdução do patógeno se deu via inoculação de conídios do fungo *B. maydis*, no período em que as plantas atingiram o estágio fenológico V4 (apresentando quatro folhas expandidas, com colar, lígula e aurículas visíveis) conforme descrito por Santos et al. (2016). O inóculo aplicado consistiu em solução de conídios em concentração de 2×10^4 conídio.mL⁻¹, ajustada com auxílio de hemacitrômetro, com adição de poli-oxi-etileno-sorbitano monolautaro (Tween 20, Sigma Chemical Co) na proporção de 1 gota L⁻¹, a fim de garantir melhor cobertura e umedecimento das folhas pela suspensão do inóculo. A inoculação se deu pela aspersão da suspensão na planta até o ponto de escorrimento.

Tabela 1. Origem das populações de polinização aberta e do número de linhagens S₄ de milho-pipoca oriundas de cada população

Denominação da população	Número de linhagens avaliadas	Origem da população
ARZM 05 083	3	Centro Internacional para el Mejoramiento de Maíz y Trigo - Argentina
ARZM 07 049	6	Centro Internacional para el Mejoramiento de Maíz y Trigo - Argentina
ARZM 13 050	7	Centro Internacional para el Mejoramiento de Maíz y Trigo - Argentina
BOYA 462	2	Centro Internacional para el Mejoramiento de Maíz y Trigo - Colombia
BOZM 260	13	Centro Internacional para el Mejoramiento de Maíz y Trigo - Bolivia
CHZM 13 134	2	Centro Internacional para el Mejoramiento de Maíz y Trigo - Chile
PA 091	8	Universidade Estadual de Maringá - Brasil
PA 170 R	4	Centro Internacional para el Mejoramiento de Maíz y Trigo - Paraguay
PARA-172	6	Centro Internacional para el Mejoramiento de Maíz y Trigo - Paraguay
PR-023	7	Universidade Estadual de Maringá – Brasil
SAM	9	North American landrace (USA) - South American variety
SE-013	9	Universidade Estadual de Maringá – Brasil
URUG-298	2	Centro Internacional para el Mejoramiento de Maíz y Trigo - Uruguay
Total	78	

Fonte: dados de pesquisa, 2019.

Sete dias após a inoculação, quantificou-se a incidência de folhas com sintoma de Helmintosporiose, conforme figura 1, obtida pela razão entre o número de folhas com sintoma de doença e o número de folhas totais da planta. Aos sete e quatorze dias após a inoculação, determinou-se a severidade de Helmintosporiose em folha, estimada visualmente com auxílio de escala diagramática (James,1971).



Figura 1. Representação diagramática para avaliação de severidade de helmintosporiose maidis em folhas de milho, proposta por James (1971). Fonte: James ,1971.

Os dados de incidência e severidade foram submetidos à análise de variância pelo teste “F” utilizando o software Genes (Cruz, 2013). Para a obtenção das estimativas de coeficiente de variação experimental (CVe) foi utilizada a seguinte expressão:

$$CVe = \frac{\sqrt{QM \text{ Erro}}}{Média \text{ Geral}} \times 100 \quad (1)$$

Em que:

CVe = Coeficiente de variação experimental, e

QM Erro = Quadrado médio do erro obtido por meio da análise de variância;

A estimativa de coeficiente de variação genético (CVg) foi obtido por meio da seguinte expressão:

$$CVg = \frac{\sqrt{QM \text{ Linhagens}}}{Média} \times 100 \quad (2)$$

Em que:

CVg = Coeficiente de variação genético, e

QM Linhagens = Quadrado médio da fonte variação Linhagens obtido por meio da análise de variância.

O coeficiente de relação relativo foi obtido pela relação entre o coeficiente de variação genético sobre o coeficiente de variação experimental. Para fins comparativos, avaliaram-se os valores fenotípicos ajustados de severidade das linhagens S₄, pela metodologia do teste T, de Student, calculando o valor crítico de T, a partir do qual as médias das linhagens diferem de zero. Os dados fenotípicos ajustados das linhagens S₄ foram utilizados para inferir sobre o potencial das genealogias, sendo que, para tal, foram construídos gráficos boxplot (Bussab e Morettin, 2017) utilizando software estatístico R (2016).

3.1.5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Por meio da análise de variância foi possível evidenciar diferença significativa entre as linhagens para a severidade aos 7 dias e para a severidade aos 14 dias, mostrando a variabilidade existente entre os diferentes materiais genéticos avaliados, no que se refere a resistência à Helmintosporiose. Entretanto, para a incidência de *B. maydis*, não houve significância na diferença entre as linhagens (Tabela 2). A variabilidade observada entre as linhagens em ambas as avaliações de severidade indicam a possibilidade de ganhos com a seleção para essa característica, tornando possível a seleção de linhagens com alto nível de resistência à Helmintosporiose.

O resultado não significativo para a variável incidência implicou na omissão do cálculo de parâmetros genéticos. A não significância para incidência implica em níveis iguais de distribuição da doença na folha; logo, há de se concluir que a inoculação praticada foi eficiente em causar sintomas na planta toda. Desta forma, o que irá diferenciar os genótipos será a área afetada pelo patógeno, ou seja, a severidade. Para essas variáveis foram encontrados valores de 63,14% e 74,89% para o coeficiente de variação genético, e valores de 1,13 e 2,58 para o coeficiente de variação relativo, respectivamente, para severidade aos 7 e aos 14 dias (Tabela 2). Os valores acima de 1 obtidos para o coeficiente de variação relativo (CVr) refletem na possibilidade de se alcançar ganhos com o melhoramento genético (Vencovsky, 1987), indicando a variabilidade genética nos genótipos avaliados.

Tabela 2. Resumo das análises de variância e estimativas de parâmetros genéticos para incidência e severidade de Helmintosporiose (*Bipolaris maydis*), em testes de linhagens S₄ de milho-pipoca no delineamento de blocos aumentados

Fonte de Variação	Grau de Liberdade	Quadrado Médio (% ²)		
		Incidência	Severidade aos 7 dias	Severidade aos 14 dias
Blocos	3	105.6774	0.2257	0.6490
Tratamentos (Ajustados)	83	128.2425 ^{ns}	0.1495*	1.3624**
Testemunhas (T)	5	593.2610**	0.2530**	4.2214**
Linhagens (L)	77	94.0012 ^{ns}	0.1440*	1.1825**
T. vs L.	1	439.7323 ^{ns}	0.0629 ^{ns}	0.9168*
Erro	15	161.4382	0.0678	0.1565
Média Geral		38,25	0,48	1,41
Média Testemunhas		41,97	0,52	1,58
Média Linhagens		37,10	0,46	1,36
Cve (%)		33,21	54,32	28,06
CVg (%)		--	63,14	74,89
CVr		--	1,13	2,58

^{ns}, *, **, respectivamente, não significativo em 5 %, significativo em 5 % e significativo em 1 % pelo teste de F; Cve = Coeficiente de variação experimental; CVg = Coeficiente de variação genético; CVr = Coeficiente de variação relativo. Fonte: dados de pesquisa, 2019.

Na primeira avaliação, severidade aos 7 dias, por meio da discriminação das linhagens, observou-se que 83,3% das linhagens apresentaram médias estatisticamente iguais a zero. Apenas 16,7% das linhagens apresentaram médias diferentes de zero, totalizando 13 linhagens, conforme apresentado na tabela 2. Sendo estas consideradas como suscetíveis ao patógeno. Considerando as genealogias das linhagens S₄ de milho-pipoca, somente SAM, PA-170-R, PA-91, CHZM-13-134 e BOYA-462 apresentaram todas as linhagens resistentes, com médias iguais a zero, pelo teste t (Gráfico 1, figura A). Considerando as genealogias das linhagens S₄ de milho-pipoca, somente SAM, PA-170-R, PA-91, CHZM-13-134 e BOYA-462 apresentaram todas as linhagens resistentes, com médias iguais a zero, pelo teste t.

Por ocasião da segunda avaliação da severidade, identificou-se aumento na severidade da doença na maioria das linhagens, resultando em maior porcentagem de linhagens susceptíveis. Entre as 78 linhagens, 37,2 % apresentaram médias iguais a zero, e 62,8 % foram consideradas susceptíveis ao *B. maydis*. Considerando o resultado da segunda avaliação de severidade, foi possível identificar potencial de resistência nas seguintes linhagens: SE-013-1, SE-013-2, SE-013-5, SE-013-6, SE-013-7, SE-013-8, SE-013-9, SAM-4, SAM-6, SAM-7, PR-023-3, PR-023-5, PR-023-6, PARA-172-1, PARA-172-3, PARA-172-4, PA-170-R-1, PA-170-R-2, PA-091-1, PA-091-2, PA-091-4, PA-091-5, PA-091-6, PA-091-7, CHZM-13-134-2, BOZM-260-5, BOZM-260-9, BOZM-260-10 e ARZM-07-049-4. O potencial para resistência a *B. maydis*, encontrado nos genótipos derivados das raças PARA-172, BOZM-260 e ARZM-07-049, também foi verificado por Kurosawa et al. (2017); contudo, os autores relatam a falta de informações referentes à resistência a doenças nos genótipos de milho-pipoca em estudo no germoplasma brasileiro.

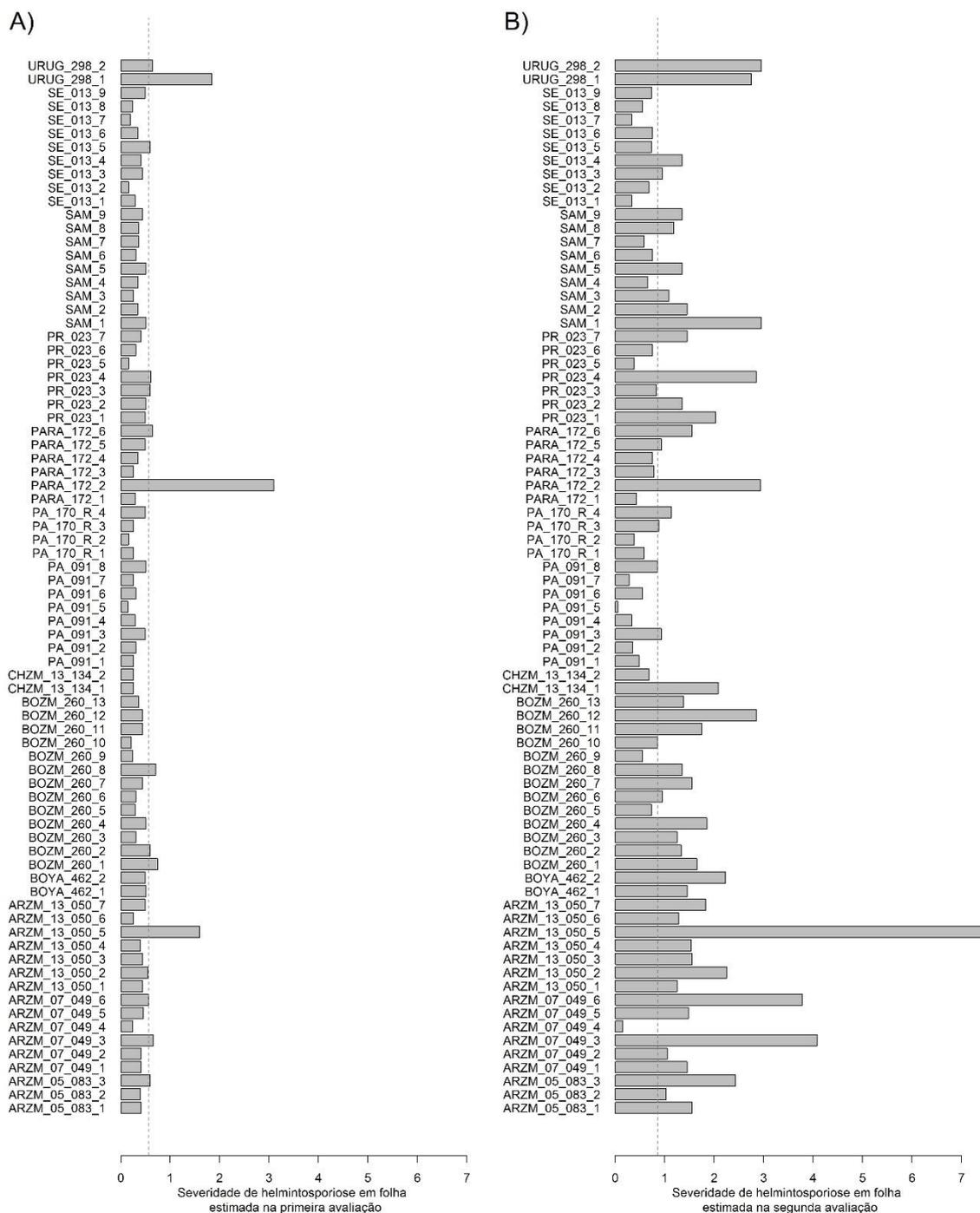


Gráfico 1. Médias das linhagens S₄ de milho-pipoca avaliadas no delineamento de blocos aumentados: A) Severidade de *Bipolaris maydis* na primeira avaliação; e B) Severidade de *Bipolaris maydis* na segunda avaliação. Linhagens que apresentam barras com magnitudes inferiores a linha, possuem média estatisticamente igual a zero. Fonte: dados de pesquisa, 2019.

Considerando as 13 genealogias das quais se obtiveram as linhagens S₄ avaliadas, observou-se que há variabilidade dentro das famílias para incidência de Helmintosporiose (Gráfico 2, A). Observou-se alta incidência de folhas

apresentando sintomas da doença, sendo a população ARZM-05-083 a única que apresentou a distribuição das linhagens com menor incidência: todas abaixo de 35%. Nas demais genealogias, ocorreram maior variabilidade na distribuição das linhagens quanto à incidência. A ocorrência de variabilidade em si não reflete negativamente no potencial das famílias para resistência à Helmintosporiose, mas evidencia a necessidade de, ao se trabalhar com essas famílias em programa de melhoramento, obter linhagens e avaliá-las a fim de selecionar aquelas com melhor desempenho em relação ao estresse biótico de interesse neste estudo. A exemplo, em PA-091, PA-170-R, PR-23 e SE-013, os resultados apontaram que há possibilidade de obtenção de linhagens com incidência de Helmintosporiose abaixo de 20%, valor este, ainda menor quando comparado com linhagens mais resistentes oriundas de ARZM-05-083.

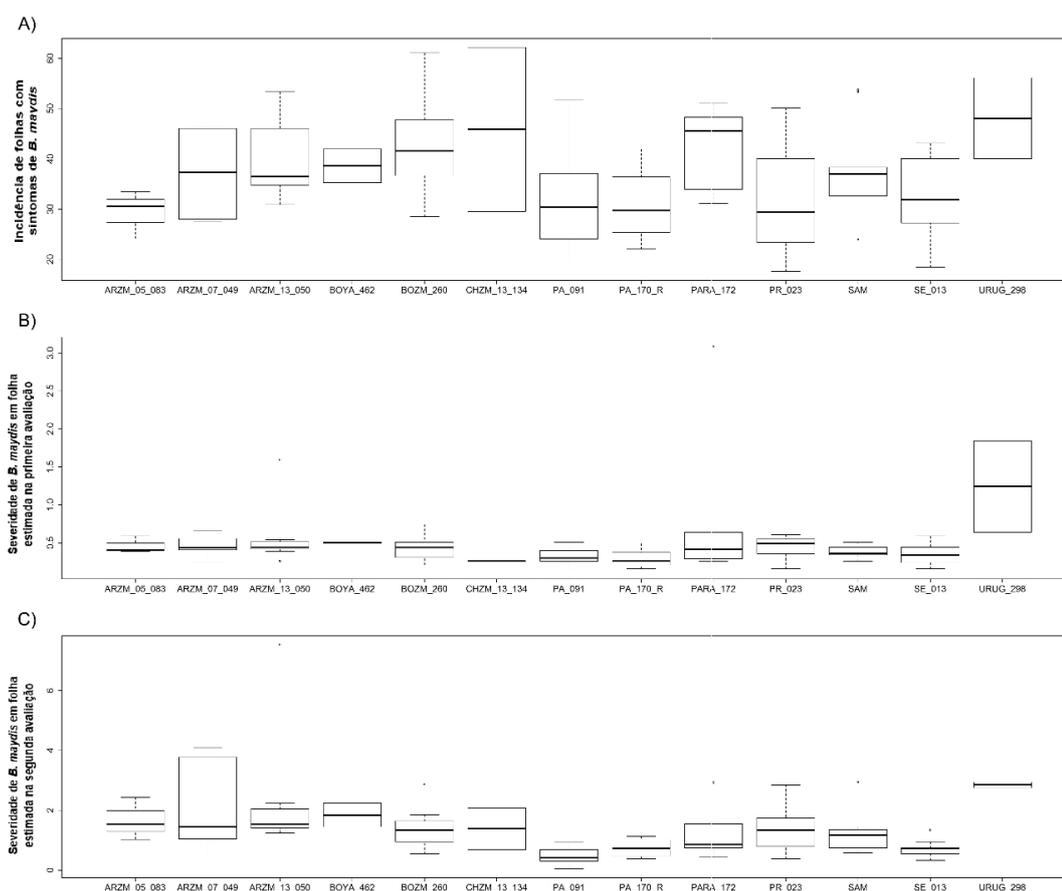


Gráfico 2. Distribuição das linhagens de milho-pipoca quanto à resistência a Helmintosporiose, agrupadas de acordo com as famílias de origem, para incidência de Helmintosporiose (A), severidade de Helmintosporiose aos 7 dias (B) e severidade aos 14 dias (C). Fonte: dados de pesquisa, 2019.

Considerando a severidade de *B. maydis* na folha, estimada na primeira avaliação, observou-se a formação de três grupos em relação à distribuição das linhagens por genealogia: URUG-298, SE-013, BOYA-462 e CHZM-12-134 apresentaram tendência de distribuição simétrica; ARZM-05-083, ARZM-07-049, ARZM-13-050, PA-091, PA-170-R, PARA-172 e SAM com assimetria à direita; enquanto um terceiro grupo, formado por BOZM-260 e PR-023, apresentou assimetria à esquerda (Gráfico 2, B). Houve um número menor de genótipos com assimetria à esquerda. Entretanto, esse resultado indica que a média desses genótipos (genealogia) está abaixo da mediana, existindo, assim, grande potencialidade para a resistência nessas famílias.

Na segunda avaliação, aos 14 dias, pode-se observar uma tendência simétrica de distribuição em ARZM-05-083, BOYA-462, BOZM-260, CHZM-13-134, PA-170-R e URUG-298. Assimetria à direita foi encontrada em ARZM-07-049, ARZM-13-050, PA-091 e PARA-172. E assimetria à esquerda, em PR-023; SAM e SE-013 (Gráfico 2, C). Observou-se maior número de famílias com tendência a distribuição simétrica.

Mesmo que em S₄, revela-se a possibilidade de exploração do potencial das linhagens em programas de melhoramento de milho-pipoca. Sendo esta cultura, em geral, mais susceptível a pragas e doenças do milho, carecendo, pois, de variedades melhoradas no âmbito de resistência a doenças foliares (Arnhold, 2008), o presente trabalho torna-se ainda de maior relevância. Portanto, a obtenção de linhagens endogâmicas dos acessos relacionados anteriormente, com potencial de resistência, e a sua utilização serão de grande valor no desenvolvimento de novas cultivares de milho-pipoca para o agronegócio brasileiro.

3.1.6. CONCLUSÕES

Dentre as linhagens avaliadas neste estudo, identificaram-se fontes de resistência à Helmintosporiose causada por *Biporis maydis*. Linhagens provenientes das famílias SE_013, SAM, PR_023, PARA_172, PA_170_R, PA_091, CHZM_13_134, BOZM_260, ARZM_07_049, apresentaram potencial a

serem exploradas em programas de melhoramento de milho-pipoca visando obtenção de resistência ao *Bipolaris maydis*.

3.1.7. REFERÊNCIAS

- Aloisio, A.V., Viana, J.M.S., Santos, J.F., Câmara, T.M.M. (2003) Eficiência da seleção de progênies S₁ e S₂ de milho-pipoca, visando à produção de linhagens. *Bragantia*, 62: 9-17.
- Altaf, M., Raziq, F., Khan, I., Hussain, H., Shah, B., Ullah, W., Naeem, A., Adnan, M., Junaid, K., Shah, S.R.A., Attaullah Mazhar, I. (2016) Study on the response of different maize cultivars to various inoculum levels of *Bipolaris maydis* (Y. Nisik & C. Miyake) shoemaker under field conditions. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 4: 533-537.
- Arnhold, E., Silva, R.G., Viana, J.M.S. (2010) Selection of popcorn S₅ inbred lines based on performance and genetic divergence. *Acta Scientiarum Agronomy*, 32: 279-283.
- Arnhold, E. (2008) Seleção para resistência a doenças foliares em famílias S₁ de milho pipoca. *Revista Ceres*, 55: 89-93.
- Bussab, W.O. and Morettin, P.A. (2017) Estatística Básica, 9 ed. Saraiva, São Paulo, 576p.
- Huang, C.J., Yang, K.H., Liu, Y.H., Lin, Y.J., Chen, C.Y. (2010) Suppression of southern corn leaf blight by a plant growth-promoting rhizobacterium *Bacillus cereus* C1L. *Annals Applied Biology*, 157: 45-53.
- Casela, C.R., Ferreira, A.S.da, Pinto, N.F. (2006) Doenças na Cultura do Milho. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Embrapa Agropecuária. Circular Técnica, 1 ed. 14p.

- Coan, M.M.D.; Senhorinho, H.J.C.; Pinto, R.J.B.; Scapim, C.A.; Tessmann, D.J.; Williams, W.P.; Warburton, M.L. (2018) Genome-wide association study of resistance to ear rot by in a tropical field maize and popcorn core collection. *Crop Science*, 58: 1-15.
- Conab - Companhia Nacional de Abastecimento. (2013) Proposta de Preços mínimos. Safra de 2013/2014. Conab. p. 158. (Versão Eletrônica, vol II).
- Cruz, C.D. (2013) GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. *Acta Scientiarum Agronomy*, 35: 271-276.
- Federer, W.T. (1956) Augmented (or hoonuiaku) designs. *Hawaiian Planters Record*, 55: 191-208.
- Freitas Jesus, I.L., Amaral Junior, A.T.do, Viana, A.P., Pena, G.F., Cabral, P.S., Vittorazzi, C., Silva, T.R.C. (2013) Ganho genético avaliado com índices de seleção e com REML/Blup em milho pipoca. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 48: 1464-1471.
- Gabriel, L.C., Bertuzzi, C.P., Pereira, G.P., Coan, M.M.D., Donel, A.A., Tessmann, D.J., Scapim, C.A. (2018) Avaliação da resistência de genótipos de milho pipoca ao acúmulo de fumonisinas e à podridão de Fusarium da espiga. *Summa Phytopathologica*, 44: 286-288.
- Guimarães, A.G., Amaral Júnior, A.T.do, Lima, V.J., Leite, J.T.; Scapim, C.A., Vivas, M. (2018) Genetic Gains and Selection Advances of the UENF-14 Popcorn Population. *Revista Caatinga*, 31: 271-278.
- James, W.C. (1971) A manual of assessment keys for plants diseases. American Phytopathological Society, St. Paul. 90p.

- Kurosawa, R.N.F., Vivas, M.; Amaral Junior, A.T.do, Ribeiro, R.M., Miranda, S.B., Pena, G.F., Leite, J.T., Mora, F. (2017) Popcorn germplasm resistance to fungal diseases caused by *Exserohilum turcicum* and *Bipolaris maydis*. *Bragantia*, 77: 36-47.
- Marcondes, M.M., Faria, M.V., Neumann, M.; Marcondes, M.M., Silva, C.A.da, Vascoski, V.L.; Rizzardi, D.A. (2015) Desempenho agronômico e forrageiro de linhagens S₄ de milho em topcrosses com híbrido simples. *Semina*, 36: 2395-2406.
- Mubeen, S., Rafique, M., Munis, M.F.H., Chaudhary, H.J. (2017) Study of southern corn leaf blight (SCLB) on maize genotypes and its effect on yield. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 16: 210-217.
- Nihei, T.H., Ferreira, J.M. (2012) Análise dialéctica de linhagens de milho com ênfase na resistência a doenças foliares. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 47: 369-377.
- Paraginski, R.T., Souza, N.L., Alves, G.H., Ziegler, V., Oliveira, M., Elias, M.C. 2016. Sensory and nutritional evaluation of popcorn kernels with yellow, white and red pericarps expanded in different ways. *Journal of Cereal Science*, 69: 383-391.
- Paterniani, E. and Miranda Filho, J.B. (1978) Melhoramento de populações. In: E. Paterniani, E. (org) Melhoramento e produção de milho no Brasil, 1 ed. ESALQ, Piracicaba – SP. 650p.
- Peternelli, L.A., Souza, E.F.M., Barbosa, M.H.P., Carvalho, M.P. (2009) Delineamentos aumentados no melhoramento de plantas em condições de restrições de recursos. *Ciência Rural*, 39: 2425-2430.
- Possatto Junior, O., Faria, M.V., Battistelli, G.M., Rossi, E.S., Marck, D.F., Silva, C.A., Gabriel, A., Gralak, E. (2017) Avaliação de linhagens S₂ de milho em topcrosses com linhagem-elite testadora. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, 16: 297-309.

- Ribeiro, R.M., Amaral Júnior, A.T.do, Pena, G.F., Vivas, M., Kurosawa, R.N.F., Gonçalves, L.S.A. (2016) History of northern corn leaf blight disease in the seventh cycle of recurrent selection of an UENF-14 popcorn population. *Acta Scientiarum Agronomy*, 38: 447-455.
- Sabato, E.O., Nicésio, F.J.A., Fernandes, F.T. (2013) Identificação e controle de doenças na cultura do milho. Embrapa Informações Tecnológicas, Brasília, DF. 198p.
- Santos, A., Amaral Junior, A.T.do, Kurosawa, R.F.N., Gerhardt, I.F.S., Fritsche Neto, R. 2017b. GGE Biplot projection in discriminating the efficiency of popcorn lines to use nitrogen. *Ciência e Agrotecnologia*, 41: 22-31.
- Santos, J.S., Amaral Junior, A.T.do, Vivas, M., Vivas, J.M.S., Kurosawa, R.N.F., Silveira, S.F. (2016) Características culturais e patológicas de *Bipolaris Maydis* em diferentes meios de cultura. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, 15: 461-469.
- Santos, J.S., Amaral Junior, A.T.do, Vivas, M., Mafra, G.S., Pena, G.F., Silva, F.H.L.E., Guimaraes, A.G. (2017a) Genetic control and combining ability of agronomic attributes and northern leaf blight-related attributes in popcorn. *Genetics and Molecular Research*, 16.
- Schwantes, I.A., Amaral Júnior, A.T.do, Gerhardt, I.F.S., Vivas, M., Lima e Silva, F.H.de, Kamphorst, S.H. (2017) Diallel analysis of resistance to *Fusarium* ear rot in Brazilian popcorn genotypes. *Tropical Plant Pathology*, 42: 70-75.
- Silva, T.R.C., Amaral Júnior, A.T.do, Gonçalves, L.S.A., Candido, L.S., Vittorazzi, C., Scapim, C.A. (2013) Agronomic performance of popcorn genotypes in Northern and Northwestern Rio de Janeiro State. *Acta Scientiarum Agronomy*, 35: 57-63.
- Team, R. C. (2016). R: A language and environment for statistical computing. Foundation for Statistical Computing.

Vencovsky, R. (1987) Herança quantitativa. *In*: E. Paterniani. (org) Melhoramento e produção de milho no Brasil, Fundação Cargil, 2 ed. v.2, Campinas, 409p.

Vieira, R.A., Rocha, R. da, Scapim, C.A., Amaral Junior, A.T.do. (2017) Recurrent selection of popcorn composites UEM-CO1 AND UEM-CO2 based on selection indices. *Crop Breed. Appl. Biotechnol.* 17: 266-272.

Vittorazzi, C., Amaral Júnior, A.T.do, Gonçalves, L.S.A., Candido, L.S., Silva, T.R.C. (2013) Selecting pre-cultivars of popcorn maize based on nonparametric indices. *Revista Ciência Agronômica*, 44: 356-362.

3.2. DESEMPENHO *per se* DE LINHAGENS S₇ DE MILHO-PIPOCA QUANTO A REAÇÃO A HELMINTOSPORIOSE (*B. maydis*) AVALIADAS A CAMPO

3.2.1. RESUMO

A Helmintosporiose, causada por *Bipolaris maydis* (*B. maydis*), pode causar danos a cultura do milho-pipoca, sendo o melhoramento genético uma das alternativas para o controle dessa doença. O presente estudo teve como objetivo avaliar o desempenho de linhagens de milho-pipoca a campo quanto à incidência e severidade de Helmintosporiose e atributos agronômicos. Conduziu-se experimento a campo, na área experimental do Ifes - Campus de Alegre. O delineamento experimental adotado foi em blocos casualizados com quatro repetições de 35 linhagens. As unidades experimentais foram compostas por três linhas de cultivo com 2 m de comprimento. Decorridas duas semanas do início do florescimento das plantas, foi realizada a avaliação de incidência de *B. maydis* na planta (IBP), severidade de *B. maydis* na planta (SBP) e severidade na folha anexa a espiga (SBF). No final do ciclo da cultura foram obtidas as informações de rendimentos de grãos (RG) e de capacidade de expansão (CE). Os dados coletados foram submetidos a análise de variância pelo teste “F” e, sendo significativo, foi realizado o agrupamento de médias pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Verificou-se diferença significativa entre os tratamentos, indicando a variabilidade existente entre as linhagens, para todas as variáveis

analisadas. Seguindo com a análise dos resultados, o teste de agrupamento, resultou na formação de 4 grupos para IBP, onde o grupo superior compreendeu as linhagens L624; L623 e L55, com médias inferiores a 40% de incidência. Para SBP e SBF, observou-se a formação de três grupos, onde 28,57% das linhagens apareceram no grupo superior em ambas as variáveis, e suas médias foram iguais a zero, estatisticamente pelo teste t. Quanto ao desempenho agrônômico, as linhagens L70, L292, L682, L55 se destacaram com resultados satisfatório para RG e CE. Entre as linhagens estudadas foi observado grande variação quanto as variáveis analisadas, sendo identificado potencial de resistência ao *B. maydis*, e linhagens com potencial agrônômico.

Palavras-chave: Resistência genética, Helmintosporiose, Linhagens.

3.2.2. ABSTRACT

Southern corn leaf blight, caused by *Bipolaris maydis* (*B. maydis*), can bring damage to the culture of popcorn, and one of the alternatives presented for controlling this disease is genetic breeding. The goal of this study was to evaluate the performance of popcorn lines in the field in terms of incidence and severity of Southern corn leaf blight and agronomic traits. A field experiment was conducted in the experimental area of the *Instituto Federal do Espírito Santo* – Ifes, Campus Alegre, Espírito Santo State, Brazil. A randomized block design with four replicates of 35 lines was adopted. The experimental units consisted of three cultivation rows of 2-m long. Two weeks after the beginning of flowering, the incidence of *B. maydis* in the plant (IBP), severity of *B. maydis* in plant (SBP), and severity in leaf attached to the ear (SBL) were evaluated. After the crop cycle, information was obtained on grain yields (GY) and expansion capacity (EC). Data collected were submitted to analysis of variance by the "F" test and, when significant, the grouping of means was conducted by the Scott-Knott test at 5% probability. A significant difference was found between the treatments, suggesting variability among lines for all variables analyzed. Following the analysis of the results, the grouping test resulted in the formation of four groups for IBP, in which the superior group included the L624; L623; and L55 lines, with means less than 40% incidence. Three groups were formed for SBP and SBL, in

which 28.57% of the lines were found in the superior group in both variables, and their means were equal to zero, statistically by the t test. As for agronomic performance, L70, L292, L682, L55 lines showed satisfactory results for GY and EC. A large variation with regard to the variables analyzed was evidenced among the lines under study, with the identification of potential for resistance to *B. maydis* and lines with agronomic potential.

Palavras-chave: Genetic resistance, Southern corn leaf blight, Lines.

3.2.3. INTRODUÇÃO

A pipoca é amplamente consumida entre os brasileiros, sendo apreciada, principalmente, como petisco em lanches rápidos. Possui forte influência em diversos setores da economia nacional e, é uma opção vantajosa para produtores pois, possui bom potencial lucrativo (Freitas et al., 2013; Paraginski et al., 2016). Embora o cultivo de milho-pipoca se apresente como vantajoso em relação ao milho comum, ainda são necessários avanços tecnológicos visando aumentar a produtividade a fim de atender à crescente demanda pelo produto no país (Amaral Júnior et al., 2013).

Nos cultivos de milho-pipoca, entraves relacionados à baixa produtividade, suscetibilidade ao acamamento, baixa capacidade de expansão dos grãos, e limitações de natureza fitopatológica, ainda são limitações das variedades nacionais, requerendo assim, investimentos em pesquisas a fim de superar tais problemas (Sawazaki, 2001; Arnhold et al. 2008). Em particular, os problemas fitopatológicos, principalmente as doenças foliares de ocorrência na cultura, geram grandes prejuízos ao cultivo. Essas doenças causam a morte do tecido foliar, diminuindo a área fotossintética ativa, impactando negativamente na produtividade (Nihei e Ferreira, 2012).

Dentre as doenças, a Helmintosporiose – causada pelo fungo *Bipolaris maydis* (Nisik & Miyake) Shoemaker [sinônimos: *Helminthosporium maydis* Nisikado & Myiake e *Drechslera maydis* (Nisikado) Subramanian & P.C. Jain)], forma teliomórfica *Cochliobolus heterostrophus* (Drechsler.) Drechsler – tem sido

alvo de trabalhos de melhoramento, pelo seu alto poder de acometimento das plantas. Em situações severas de ocorrência, quando se instala nos estágios juvenis da cultura e quando as condições climáticas favorecem o seu desenvolvimento, pode ocasionar perdas da ordem de 70% em produtividade nos cultivos de milho (Huang et al., 2010; Hussain et al., 2016; Kurosawa et al., 2017).

A resistência genética é uma das formas mais eficazes de controle de doenças em plantas, sendo possível uma ampla utilização em áreas agrícolas, e em praticamente todas as culturas, além do baixo impacto ambiental em relação ao controle químico (Camargo, 2018). Assim, trabalhos que possibilitem identificar linhagens resistentes e com bom desempenho agrônômico, para serem usadas como genitoras na obtenção de híbridos se tornam de grande utilidade para essa cultura, pois, a transferência dos alelos favoráveis aos descendentes depende da presença desses alelos nas linhagens genitoras (Hallauer et al., 2010).

O processo de seleção de genitores é uma das principais etapas dos programas de melhoramento vegetal, sobretudo, quando o objetivo final é a obtenção de híbridos, estratégia comumente utilizada no melhoramento de milho (Oliboni et al., 2012). Alguns métodos podem ser empregados para essa seleção, sendo habitual a utilização de análises dialélicas. Esse método, no entanto, pode ser inviável quando se tem maior número de linhagens para serem testadas, devido à grande quantidade de cruzamentos resultantes, demandando assim, elevada mão de obra (Pena et al., 2016; Souza Neto et al., 2015).

Outros métodos, como o *topcross* e o dialelo circulante, também podem ser utilizados a fim de diminuir o número total de cruzamentos (Vivas et al., 2014; Pena et al., 2016; Mafra et al., 2018). Entretanto, para a obtenção de resultados com o uso dos métodos supracitados, trabalhos de pré-melhoramento, visando selecionar apenas genótipos superiores, constitui-se como alternativa amplamente utilizada pelos melhoristas. Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi investigar o desempenho de linhagens de milho-pipoca em estágio S₇, quanto à resistência a Helmintosporiose e, indicar os materiais mais promissores a serem testados em cruzamentos para a geração de híbridos que agreguem alto rendimento de grãos e capacidade de expansão, além da resistência a *B. maydis*.

3.2.4 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi instalado em novembro de 2017, no Instituto Federal do Espírito Santo - Campus de Alegre, localizado no município de Alegre, Sul do estado do Espírito Santo, latitude 20°45'44" Sul, longitude 41°27'43" Oeste e altitude de 134 m. A temperatura anual média da região é de 23,1°C e precipitação total anual média de 1341 mm (Lima et al., 2008). Foram avaliadas 35 linhagens de milho-pipoca, em estágio S₇ (Tabela 1). Adotou-se delineamento em blocos casualizados, com quatro repetições.

A área de plantio foi preparada mecanicamente com gradagem sendo a sulcagem, adubação e o semeio realizados manualmente. Cada unidade experimental foi constituída por três fileiras de 2 m de comprimento, com espaçamento de 0,90 m entre fileiras. A semeadura foi realizada respeitando-se a densidade de cinco plantas por metro linear. Os tratos culturais empregados, como adubação de plantio e cobertura, irrigação, controle de pragas e ervas daninhas, entre outros, foram realizados conforme as exigências da cultura do milho-pipoca.



Figura 1. Representação diagramática para avaliação de severidade de Helminthosporiose maidis em folhas de milho, proposta por James (1971). Fonte: James, 1971.

O desempenho das linhagens, quanto a resistência ao *B. maydis*, foi avaliado estimando-se a incidência e severidade da doença nas cinco plantas centrais de cada unidade experimental. A avaliação ocorreu quinze dias após o

início do florescimento das plantas, período no qual acredita-se ser mais favorável à ocorrência da doença. A incidência de *B. maydis* na planta (IBP), foi avaliada contabilizando o número de folhas com sintomas em relação ao número total de folhas em cada uma das cinco plantas centrais, expresso em porcentagem. A severidade de *B. maydis* na folha (SBF), foi estimada visualmente com auxílio da escala diagramática proposta por James (1971), sendo o intervalo de severidade expressos pela escala: 0%; 1%; 5%; 25% e 100% de área foliar lesionada. Nessa avaliação, foi avaliada a folha anexa a primeira espiga de cada planta.

A severidade de *B. maydis* na planta (SBP), foi estimada, também visualmente, com base na escala diagramática desenvolvida pela Agroceres (1996), com os seguintes intervalos de severidade: 0%; 0,5%; 10%; 30%; 50%; 70%; 80%; 90% e 100%.

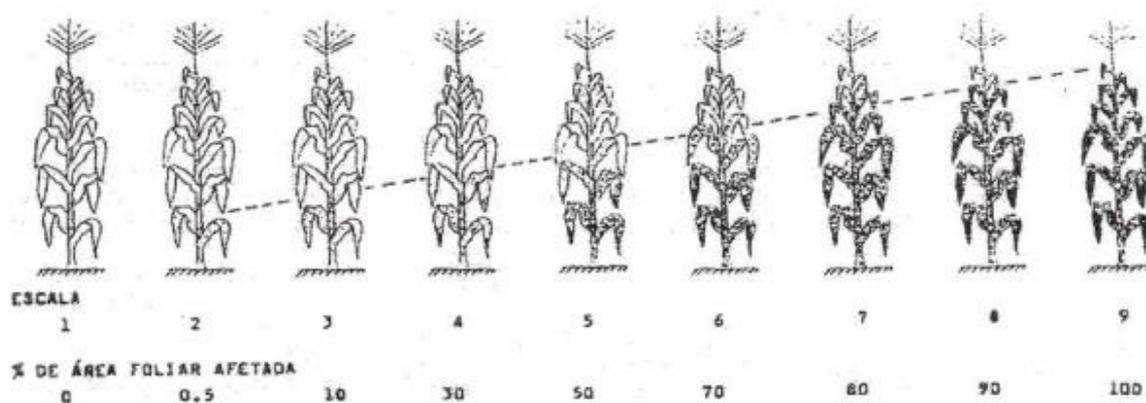


Figura 2. Representação diagramática para avaliação de severidade de moléstias com base na planta adotada pela Agroceres (1996). Fonte: Agroceres, 1996.

Além das avaliações de incidência e severidade de Helmintosporiose (*B. maydis*), após a colheita dos grãos, foram avaliadas as características agronômicas de importância para a cultura. O rendimento de grãos em $\text{Kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ (RG), obtido pela pesagem dos grãos colhidos em todas as plantas de cada unidade experimental. E a capacidade de expansão, em $\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$ (CE), obtida após o pipocamento dos grãos. Para o pipocamento, foram obtidas duas amostras com 30 gramas (g) de grãos de cada uma das unidades experimentais (para mensurar a massa de grãos das amostras utilizou-se balança digital de precisão com quatro casas decimais). Cada amostra, separadamente, foi acondicionada em sacos de papel, os quais posteriormente foram aquecidos em aparelho micro-ondas, sob potência de 1000

watts por dois minutos. O volume resultante da expansão foi mensurado em proveta volumétrica de 1000 mL e posteriormente, ponderado pela massa inicial de grãos (30 g).

Tabela 1. Descrição da origem, adaptação climática e instituição de desenvolvimento das linhagens contidas no estudo

Linhagens	Origem	Adaptação climática	Instituição de Desenvolvimento
P4	Raças Sul-americanas	Temperado/ Tropical	UEM
P3	Composto CMS-42	Temperado/ Tropical	UEM
P2	Composto CMS-42	Temperado/ Tropical	UEM
L76	Viçosa	Temperado/ Tropical	UENF
L71	BRS-Angela	Tropical	UENF
L70	BRS-Angela	Tropical	UENF
L695	UENF-14	Tropical	UENF
L693	UENF-14	Tropical	UENF
L692	UENF-14	Tropical	UENF
L691	UENF-14	Tropical	UENF
L689	UENF-14	Tropical	UENF
L688	UENF-14	Tropical	UENF
L686	UENF-14	Tropical	UENF
L685	UENF-14	Tropical	UENF
L683	UENF-14	Tropical	UENF
L682	UENF-14	Tropical	UENF
L624	PA 091	Temperado/ Tropical	UENF
L623	PA 091	Temperado/ Tropical	UENF
L55	Beija-flor	Temperado/ Tropical	UENF
L51	Beija-flor	Temperado/ Tropical	UENF
L509	PA 170 Roxo	Temperado/ Tropical	UENF
L477	SE 013	Tropical	UEM
L476	SE 013	Tropical	UEM
L363	PR 023	Tropical	UEM
L294	URUG 298	Temperado	UENF
L293	URUG 298	Temperado	UENF
L292	URUG 298	Temperado	UENF
L270	PARA 172	Temperado	UENF
L266	PARA 172	Temperado	UENF
L265	PARA 172	Temperado	UENF
L263	PARA 172	Temperado	UENF
L262	PARA 172	Temperado	UENF
L261	PARA 172	Temperado	UENF
L204	IAC 125	Temperado/ Tropical	UENF
L203	IAC 125	Temperado/ Tropical	UENF

Os dados foram submetidos à análise de variância, e quando identificado diferença significativa pelo teste F, foi aplicado o teste de agrupamento de médias Scott-Knott a 5 % de probabilidade. Para a obtenção das estimativas de coeficiente de variação experimental (CVe) foi utilizada a seguinte expressão:

$$CVe = \frac{\sqrt{QM \text{ Resíduo}}}{Média \text{ Geral}} \times 100 \quad (1)$$

Em que:

CVe = Coeficiente de variação experimental, e
 QM Resíduo = Quadrado médio do erro obtido por meio da análise de variância;

A estimativa de coeficiente de variação genético (CVg) foi obtido por meio da seguinte expressão:

$$CVg = \frac{\sqrt{QM \text{ Linhagens}}}{Média} \times 100 \quad (2)$$

Em que:

CVg = Coeficiente de variação genético, e
 QM Linhagens = Quadrado médio da fonte variação Linhagens obtido por meio da análise de variância.

Para a estimativa de coeficiente de determinação genotípico utilizou-se a seguinte expressão:

$$H^2 = \frac{QM \text{ Linhagens}}{QM \text{ Linhagens} + QM \text{ Resíduo}} \quad (3)$$

Em que:

H^2 = Coeficiente de determinação genotípico;

QM Linhagens = Quadrado médio da fonte variação Linhagens obtido por meio da análise de variância, e

QM Resíduo = Quadrado médio da fonte variação Resíduo obtido por meio da análise de variância.

O coeficiente de relação relativo foi obtido pela relação entre o coeficiente de variação genético sobre o coeficiente de variação experimental.

Para as variáveis IBP; SBF e SBP, foi utilizado também, o teste T de Student, para discriminar se a média de cada linhagem é estatisticamente igual ou diferente de zero. Além disso, foram construídos gráficos boxplot para cada variável, agrupando os valores estimados em cada unidade experimental de linhagens de mesma genealogia.

3.2.5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os quadrados médios das linhagens foram significativos, ao nível de 1% de probabilidade, para as cinco variáveis analisadas, indicando a ocorrência de variabilidade genética entre os genótipos avaliados (Tabela 2). As magnitudes dos coeficientes de variação experimental (C_{Ve}) apresentaram valores de 22,41%, 48,68%, 62,97%, respectivamente, para IBP, SBF, SBP, valores esses considerados altos para a experimentação agrícola, no entanto, apesar de serem valores relativamente altos, outros trabalhos de avaliação de doenças foliares tem demonstrado ser uma evento comum para esse tipo de caráter (Vieira et al., 2009; Kurosawa et al., 2016).

O C_{Ve} obtido para CE, se comparado ao encontrado por Arnhold e Milani (2011), pode ser considerado alto, sendo maior que o limite inferior da classe estabelecida pelos autores, que é de 20,34%. Já para RG, o C_{Ve} obtido nesse experimento pode ser classificado como médio, se comparado a classificação de Scapim et al. (1995). No entanto, altas estimativas de C_{Ve} podem estar atreladas a variações do material genético. Desta forma, observa-se valores altos para o coeficiente de variação genético (C_{Vg}) para todas as características analisadas, o que proporcionou valores elevados para o coeficiente de variação relativo (C_{Vr}),

todos acima de 1 (tabela 2). Valores acima de 1 para esse parâmetro, demonstram haver maior variação devido as causas genéticas (Vencovsky, 1987). Dado relevante para trabalhos de seleção de linhagens, devido à necessidade de selecionar genótipos resistentes e distantes geneticamente. Sendo assim, estes resultados revelam a possibilidade de obtenção de ganhos para essas características agrônômicas em cruzamentos futuros, e ainda sendo possível identificar fontes de resistência a Helmintosporiose com seleção baseada no fenótipo dessas linhagens. Tal possibilidade também pode ser confirmada pelos altos valores encontrados para o coeficiente de determinação genotípico (H^2) (Tabela 2).

Tabela 2. Resumo das análises de variância e estimativas de parâmetros genéticos para incidência de *B. maydis* na planta (IBP); severidade de *B. maydis* na folha (SBF) e planta (SBP); rendimento de grãos em kg ha^{-1} (RG) e para capacidade de expansão (CE), em linhagens S₇ de milho-pipoca

Fonte de variação	Gl	Quadrado médio				
		IBP	SBF	SBP	RG	CE
Blocos	3	1195,53	0,78050	8,2832	204138	17,969
Linhagens	34	622,97**	0,76106**	7,0069**	2178319**	113,99**
Erro	102	130,60	0,09714	1,5219	92996	11,572
Média geral		50,99	0,6402571	1,958914	1395,763	15,26157
Cve (%)		22,41	48,68	62,97	21,85	22,29
Cvg (%)		48,95	136,27	135,13	105,74	69,96
H^2		0,83	0,89	0,82	0,96	0,91
CVr		2,18	2,80	2,15	4,84	3,14

ns, **, respectivamente, não significativo em 5 %, significativo a 1 % pelo teste F; Cve = Coeficiente de variação experimental; CVg = Coeficiente de variação genético; H^2 = Coeficiente de determinação genotípico; e, CVr = Coeficiente de variação relativo. Fonte: dados de pesquisa, 2019.

A alta variabilidade genética encontrada entre as linhagens, pode estar relacionada às diferentes genealogias destas. Neste estudo, estão compreendidas trinta e cinco linhagens endogâmicas de treze genealogias (Tabela 1). Visando obter uma visão mais abrangente sobre o efeito da genealogia sobre o desempenho das linhagens, construíram-se gráficos Boxplot. Quanto as genealogias, encontrou-se no Gráfico 1, a distribuição dos dados fenotípicos avaliados em cada unidade experimental, agrupados em relação a genealogia de cada linhagem, para as variáveis IBP, SBF e SBP.

Para a incidência de *B. maydis* na planta (IBP) (Gráfico 1, A), encontrou-se amplitude de 16 a 97%. A maior parte das genealogias apresentaram mediana entre as porcentagens de 40 a 60%, destacando-se as linhagens oriundas da população PA-091 com mediana próxima de 15% de incidência e amplitude máxima não ultrapassando 40%. Outro ponto importante foi a baixa dispersão dos dados, exceto quanto a genealogia UENF-14, que apresentou dados variando entre 21 e 97%. Entretanto essa genealogia compreende o maior número de linhagens, cerca de 28,5% do total, revelando que a população inicial provavelmente possui uma base genética ampla, principalmente para genes relacionados à incidência de *B. maydis*.

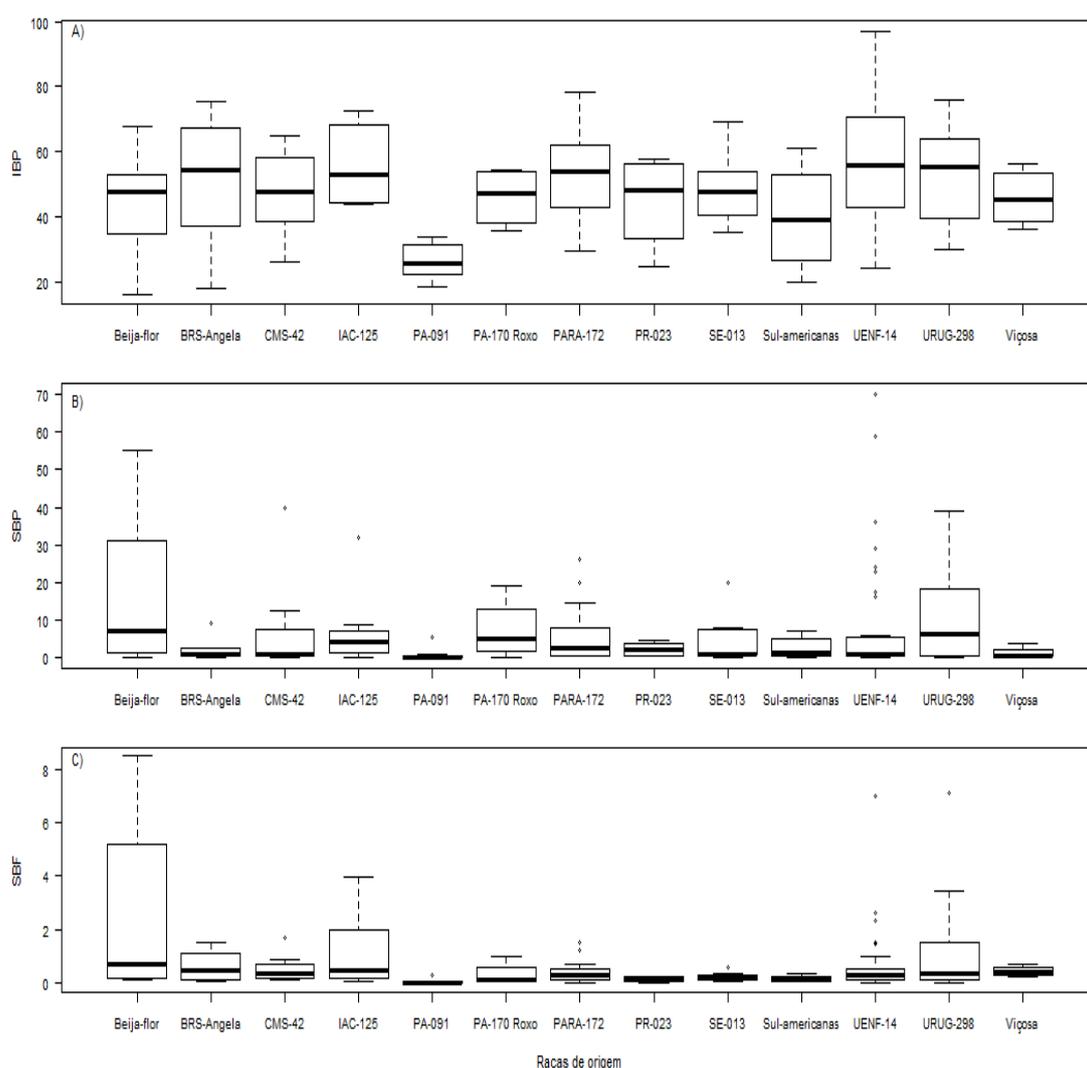


Gráfico 1. Distribuição das linhagens de milho-pipoca quanto à resistência ao *Bipolaris maydis*, agrupadas de acordo com as genealogias, A) para Incidência de *Bipolaris maydis* na planta (IBP), B) severidade de *Bipolaris maydis* na planta (SBP) e, C) severidade na folha. Fonte: dados de pesquisa, 2019.

Para a severidade de *B. maydis* na planta (SBP), conforme gráfico 1B, observou-se amplitude variando de 0,1% a 70%. A mediana das diferentes genealogias ficou em torno de 10%, valor relativamente baixo, entretanto houve elevada dispersão dos dados, identificados pela presença de *outliers* em sete das trezes genealogias, com maior presença na população UENF-14. Quanto a severidade na folha (SBF) apresentada no gráfico 1C, observou-se pequena amplitude, com porcentagens que variaram entre 0 a 8,5% de área foliar lesionada. As genealogias Beija-flor, IAC-125, UENF-14 e URUG-298, foram as que apresentaram maior dispersão dos dados, identificada pelo posicionamento do menor e maior valor observado para cada genealogia, além dos *outliers* presentes. Em geral as medianas ficaram compreendidas entre 0 e 2% de severidade.

Quanto as avaliações agronômicas, observou-se maiores amplitudes para o rendimento de grãos (RG) como demonstrou-se no gráfico 2A, com produtividades variando de 176 a 3.934 kg ha⁻¹. As genealogias CMS-42 e Sul-americanas, apresentaram as maiores medianas, acima de 2.000 kg ha⁻¹. As genealogias Beija-flor; BRS-Angela; PARA-172; SE-013; UENF-14; URUG-298 e Viçosa, apresentaram mediana entre 1000 e 2000 kg ha⁻¹, e as genealogias IAC-125; PA-091; PA-170 Roxo e PR-023, ficaram com medianas abaixo de 1000 kg ha⁻¹.

Para a capacidade de expansão (CE) conforme gráfico 2B, a amplitude variou de 4,1 a 33,06 mL g⁻¹. A maioria das medianas se situaram entre 10 e 20 mL g⁻¹. Ainda é possível, com base no gráfico, destacar as genealogias BRS-Angela, IAC-125; UENF-14 e URUG-298, as quais apresentaram o limite superior acima de 25 mL g⁻¹, indicando a presença de linhagens com alelos favoráveis para maiores valores de CE.

Em relação ao desempenho *per se* das linhagens, agrupadas em relação à média, percebe-se, no Gráfico 3, a formação de grupos similares quanto a resistência a Helmintosporiose. Nota-se a formação de quatro grupos para IBP. Onde o grupo superior compreendeu as linhagens L624; L623 e L55, com médias inferiores a 40% de incidência. O grupo inferior envolveu apenas a linhagem L693 sendo que as demais foram reunidas nos dois grupos intermediários. Embora o teste de agrupamento de médias tenha sido eficiente em identificar grupos

superiores para cada caractere nota-se para IBP, que todas as linhagens possuem médias estatisticamente superiores a zero.

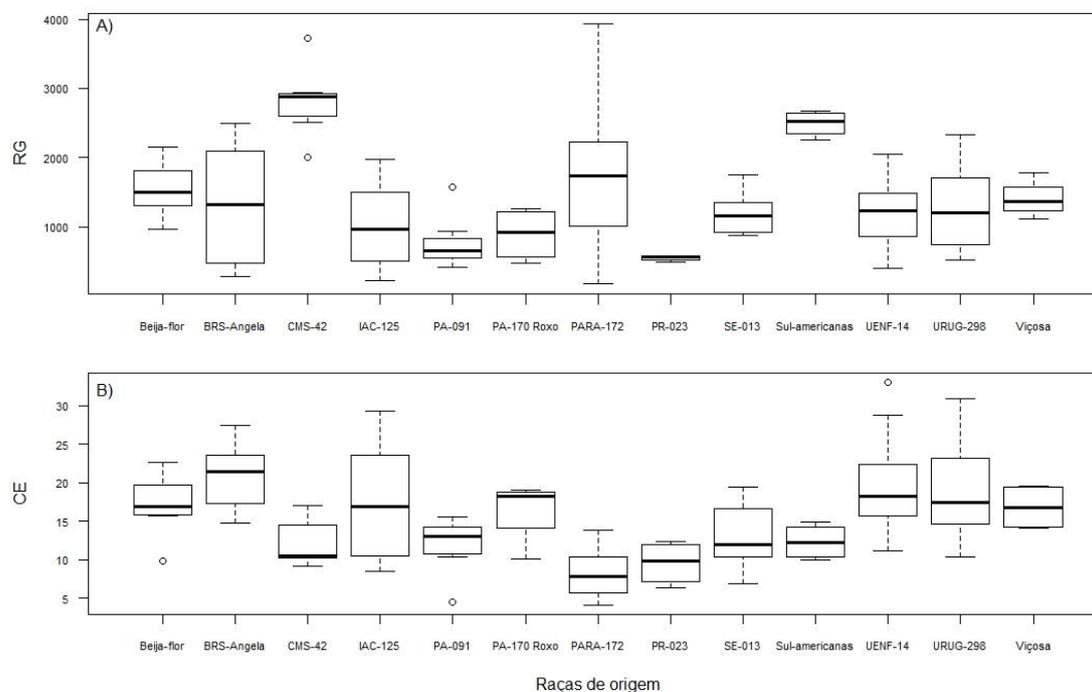


Gráfico 2. Distribuição das linhagens de milho-pipoca quanto ao desempenho agrônômico, agrupadas de acordo com a genealogia, A) para rendimento de grãos (RG) em kg ha^{-1} e B) capacidade de expansão dos grãos (CE) em mL g^{-1} . Fonte: dados de pesquisa, 2019.

Apesar de todas as linhagens terem apresentado a doença em suas folhas, observou-se no gráfico 1, B e C, que em algumas destas linhagens, apesar da ocorrência da infecção, não houve evolução da doença, identificada pela baixa severidade na planta e na folha. Para a severidade de *B. maydis* na planta (SBP) e severidade na folha (SBF), observou-se a formação de três grupos. No primeiro caso, analisando a SBP, percebe-se que 31 linhagens foram alocadas no grupo superior, destas, apenas dez possuem médias com magnitude inferior ao limite crítico de igualdade a zero. São elas: L76, L70, L695, L692, L689, L685, L624, L623, L292 e L266.

Avaliando a severidade da doença, as linhagens que se destacaram tanto para SBP quanto para SBF, são as dez mencionadas acima, em ambas variáveis, pertencem ao grupo superior e suas médias são estatisticamente iguais a zero. Para SBF, o grupo superior foi formado por 31 linhagens. Ainda para essa variável,

todas integrantes do grupo superior possuem médias iguais a zero. Desta forma os dados demonstram que todas as genealogias deram origem a linhagens com baixa severidade de *B. maydis* na folha.

Considerando as três variáveis, e o agrupamento pelo teste de Scott-Knott, apenas as linhagens L624, L623 e L55, oriundas da genealogia PA-091 e Beija-flor, participam do grupo superior para as três características. Avaliando a severidade da doença, as linhagens que se destacaram ao mesmo tempo para SBP e SBF, são as dez mencionadas acima, em ambas variáveis, pertencem ao grupo superior e suas médias são estatisticamente iguais a zero. Estas linhagens, que se destacaram, foram obtidas das seis genealogias, a saber: Viçosa, BRS-Angela, UENF-14, URUG-298, PA-091, Para-172. A maioria das linhagens que se destacaram possui sua genealogia de populações que já passaram por processos de melhoramento, tendo provavelmente, reunida grande quantidade de genes favoráveis às principais características de interesse para a cultura do milho-pipoca.

O bom desempenho demonstrado pela linhagem L70, obtida da população BRS-Angela, pode estar atrelado ao fato de que essa população originou-se de um composto formado por 33 materiais de milho-pipoca, selecionados para resistência a doenças foliares, e que após ciclos de seleção recorrente adquiriu ganhos expressivos para ser comercializada como cultivar (Pacheco et al., 2005). Essa grande diversidade dos materiais de origem desta população, possivelmente, abrangeu alelos de resistência a doenças foliares, incluindo o *B. maydis*.

Quanto a população UENF-14, uma população de polinização aberta obtida por ciclos de seleção recorrente intrapopulacional (Amaral Júnior et al., 2013), quando avaliado o histórico de Helmintosporiose causada por *Exserohilum turcicum*, Ribeiro et al., (2016) verificaram que a seleção realizada ao longo dos ciclos, mesmo que não tenha sido realizada para essa característica efetivamente, favoreceu os alelos de resistência, sendo estes mantidos na população. Assim, acredita-se que durante a obtenção dessa cultivar, tenha sido feita de forma empírica, a seleção também de plantas com resistência ao *B. maydis*.

As linhagens resistentes obtidas das genealogias URUG-298 e Para-172, corroboram com os resultados encontrados por Kurosawa (et al., 2018), que ao avaliarem essas populações, encontraram resultados promissores a esse patossistema, sendo, portanto, indicadas como possíveis fontes de genes de resistência ao *B. maydis*.

Além da resistência à doença, é importante levar em consideração o bom desempenho agrônomo das linhagens. Alto rendimento de grãos e alta capacidade de expansão são as principais características requeridas nas cultivares de milho-pipoca; a dificuldade de selecionar essas características simultaneamente está na correlação negativa entre elas (Freitas et al., 2013). Ademais, a produtividade, de ação gênica dominante (Pereira e Amaral, 2001; Barreto et al., 2012), possui maior facilidade de ser reestabelecida pela heterose, no entanto, a capacidade de expansão com predominância de efeitos gênicos aditivos, é de difícil ganho por meio da exploração da heterose (Pereira e Amaral Júnior, 2001; Scapim et al., 2006). Sendo assim, é muito importante que as linhagens indicadas para serem testadas em cruzamentos híbridos, apresentem resistência ao patógeno e a boa capacidade de expansão.

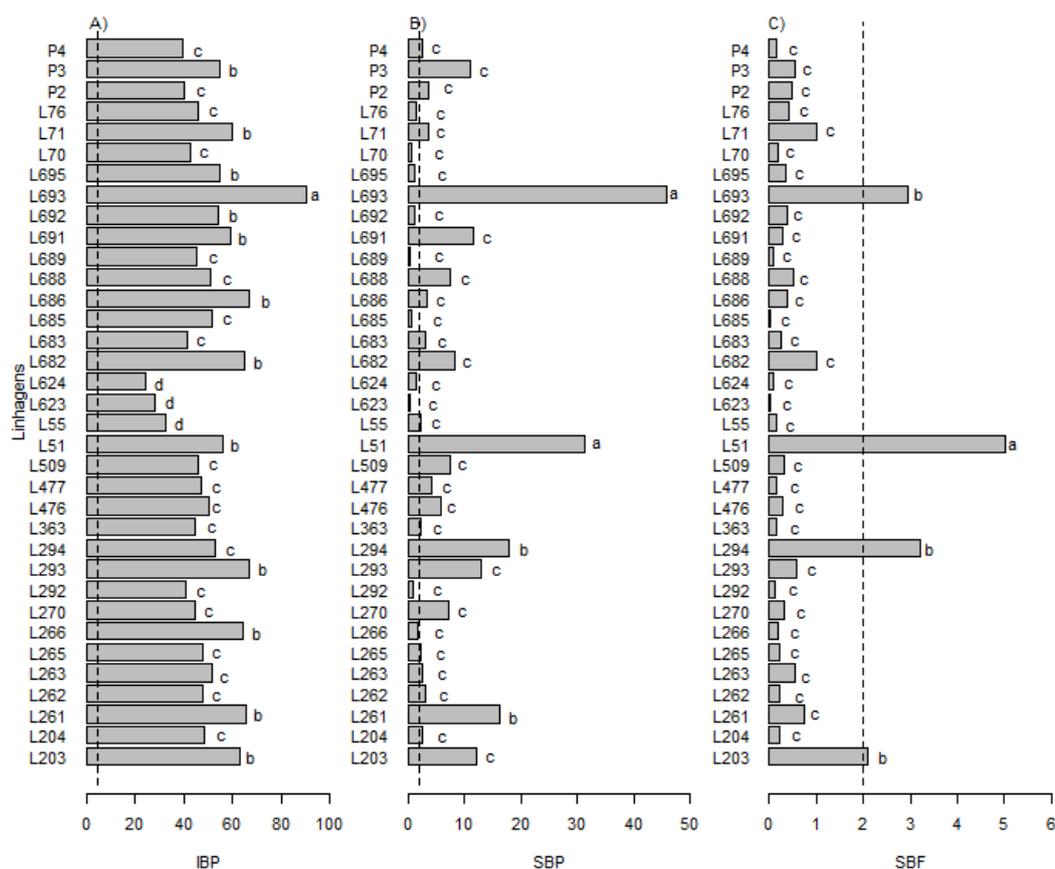


Gráfico 3. Médias das linhagens de milho-pipoca quanto à resistência ao *Bipolaris maydis*, (A) para Incidência de *Bipolaris maydis* na planta (IBP), (B) severidade de *Bipolaris maydis* na planta (SBP) e, (C) severidade na folha. Barras seguidas de mesma letra pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott-Knott 5 % de probabilidade. Linhagens que apresentam barras com magnitudes inferiores a linha pontilhada, possuem média estatisticamente igual a zero. Fonte: dados de pesquisa, 2019.

Ao avaliar a dispersão das linhagens em relação ao RG e CE (Gráfico 4), nota-se potenciais inversos para essas variáveis. Estes resultados podem ser relacionados aos efeitos da correlação negativa existente entre esses parâmetros, já identificados na cultura do milho-pipoca (Vilarinho et al., 2013). Para o rendimento de grãos, confirma-se o alto valor encontrado para CVr para essa variável (Tabela 2), pela grande variação entre as linhagens.

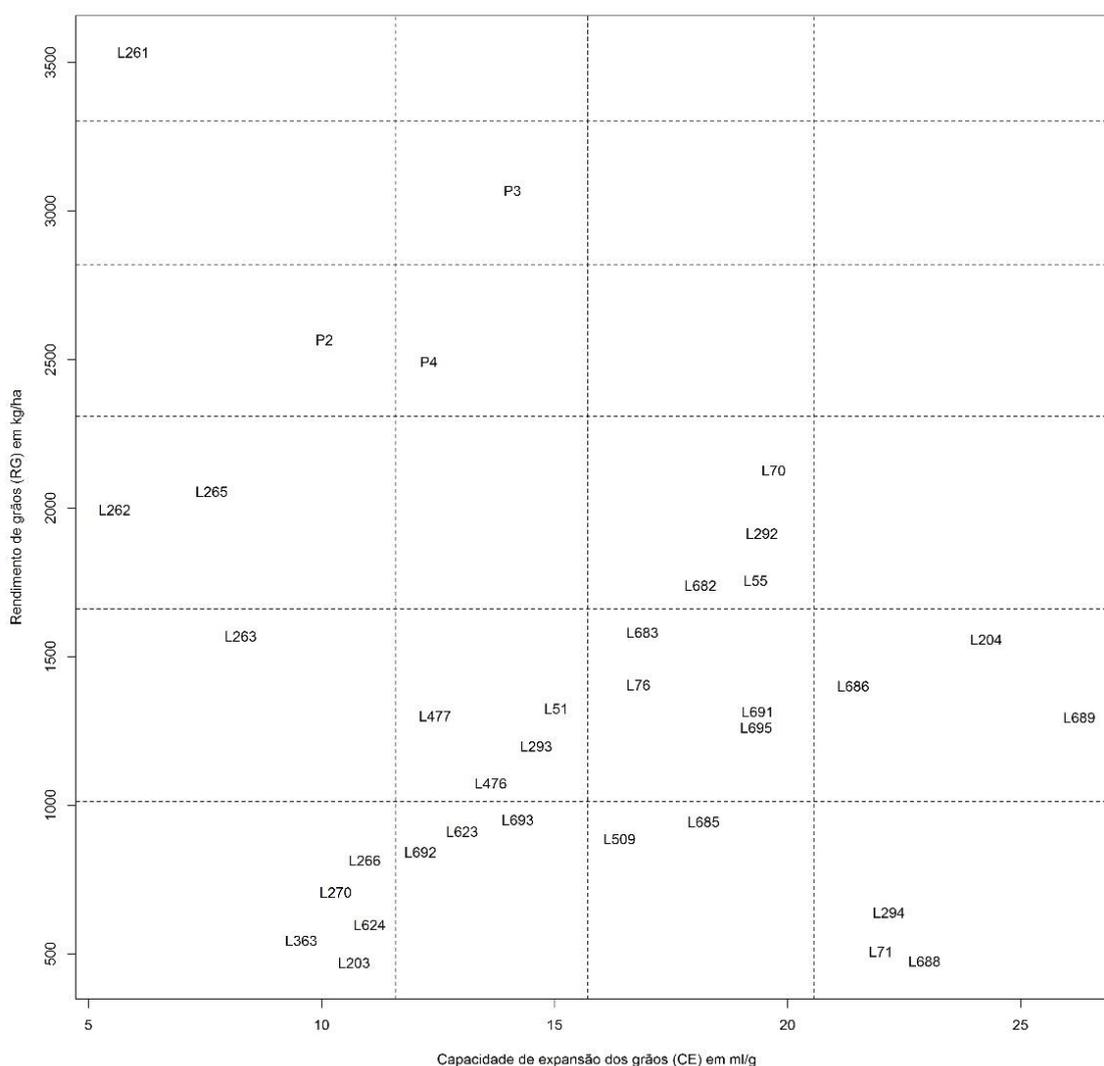


Gráfico 4. Dispersão das linhagens de milho-pipoca quanto ao rendimento de grãos em kg ha^{-1} (RG) e capacidade de expansão em mL g^{-1} (CE). Linhas horizontais delimitam o limite dos grupos similares para RG e linhas verticais indicam o limite para CE formados pelo teste de Scott-Knott a 5%. Fonte: dados de pesquisa, 2019.

Quanto ao agrupamento, foram distintos seis grupos para essa variável. O grupo superior, limitou-se apenas a linhagem L261 oriunda da população PARA-

172. Entretanto, outras linhagens que foram alocadas no segundo e terceiro grupo, como a P3, P2 e P4 originadas do composto CMS-42 e de Raças Sul-americanas, com média em torno de 2.500 a 3.000 kg.ha⁻¹ também apresentaram bons resultados. Considerando que são linhas puras, em estágio S₇, estes valores são elevados para essa variável.

O quarto grupo, formado pelas linhagens L262, L265, L70, L292, L682, L55, que apresentaram médias em torno de 2.000 kg ha⁻¹, também são boas opções para rendimento de grãos, somando-se o fato desse grupo reunir linhagens com bons resultados para CE. Para a capacidade de expansão, as linhagens L686, L204 e L689 obtidas das genealogias UENF-14 e IAC-125, foram reunidas no grupo superior, além de apresentarem produtividade satisfatória, em torno de 1.500 kg ha⁻¹. Ainda no grupo superior para CE, integram as linhagens L71, L294 e L688, extraídas das populações BRS-Angela; URUG-298 e UENF-14, respectivamente, porém estas com produtividade inferior, com médias próximas de 500 kg ha⁻¹.

As genealogias UENF-14, BRS-Angela e IAC-125 são cultivares comerciais, que apresentam bom desempenho agrônomo, o que provavelmente está relacionado ao desempenho das linhagens, encontrado nesse estudo. Considerando as linhagens que se destacaram quanto a resposta à ocorrência de Helmintosporiose, a L689, apresentou, alto valor para CE e produtividade satisfatória, sendo, portanto, indicada para teste de obtenção de genitores de híbridos. Também as linhagens L70 e L292, consideradas fontes de resistência a Helmintosporiose, apresentaram resultados promissores para CE e RG.

3.2.6. CONCLUSÕES

Foi possível identificar fontes de resistência ao *B. maydis* com bom potencial produtivo.

As linhagens L76; L70; L695; L692; L689; L685; L624; L623; L292 e L266 formaram o grupo promissor para resistência ao patógeno.

As linhagens L261, P3, P2 e P4 apresentaram alto rendimento de grãos, enquanto que as linhagens L689, L204, L688, L294, L71 e L696 apresentaram os maiores valores para capacidade de expansão.

3.2.7. REFERÊNCIAS

- Agrocere. (1996) Guia agrocere de sanidade. São Paulo: Sementes Agrocere, 72p.
- Amaral Júnior, A.T., Gonçalves, L.S.A., Freitas Júnior, S.P., Candido, L.S., Vittorazzi, C., Pena, G.F., Ribeiro, R.M., Silva, T.R.C., Pereira, M.G., Scapim, C.A., Viana, A.P., Carvalho, G.F. (2013) UENF-14: a new popcorn cultivar. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 13:218-220.
- Arnhold, E. (2008) Seleção para resistência a doenças foliares em famílias S₁ de milho pipoca. *Revista Ceres*, 55: 89-93.
- Arnhold, E., Milani, K.F. (2011). Rank-ordering coefficients of variation for popping expansion. *Acta Scientiarum Agronomy*, 33, 527-531.
- Barreto, R.R., Scapim, C.A., Amaral Júnior, A.T. do, Rodovalho, M.A., Vieira, R.A., Schuelter, A.R. (2012) Avaliação da capacidade de combinação de famílias S₂ de milho-pipoca por meio de diferentes testadores. *Semina: Ciências Agrárias*, v.33, n.3, p. 873-890.
- Camargo, L.E.A. (2018b) Controle genético. *In*: Amorim, L.; Rezende, J.A.M. & Bergamin Filho, A. (org) *Manual de Fitopatologia*. Volume 1 - Princípios e Conceitos. 5ª Edição. Editora Agronômica Ceres Ltda. São Paulo. 2018. 573p.
- Freitas, I.L.J., Amaral Junior, A.T. do., Viana, A.P., Pena, G.F., Cabral, P.S., Vittorazzi, C., Silva, T.R.C. (2013) Ganho genético avaliado com índices de seleção e com REML/Blup. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 48(11):1464-1471.
- Hallauer, A. R, Carena, M. J., Miranda Filho, J. B. (2010). *Quantitative genetics in maize breeding*. Iowa: Springer.

- Huang, C.J., Yang, K.H., Liu, Y.H., Lin, Y.J., Chen C.Y. (2010) Suppression of southern corn leaf blight by a plant growth-promoting rhizobacterium *Bacillus cereus* C1L, *An. Appl. Biol.* 157: 45–53.
- Hussain, H., Raziq, F., Khan, I., Shah, B., Altaf, M., Attaullah, Ullah, W., Naeem, A., Adnan, M., Junaid, K., Shah, S.R.A. and Iqbal, M. (2016) Effect of *Bipolaris maydis* (Y. Nisik & C. Miyake) shoemaker at various growth stages of different maize cultivars. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 4: 439-444.
- James, W.C. (1971) A manual of assessment keys for plant diseases. *The American Phytopathological Society*, 1458. 66p.
- Kurosawa, R.N.F., Vivas, M., Amaral Junior, A.T., Ribeiro, R.M., Miranda, S.B., Pena, G. F., Leite, J.T., Mora, F. (2017) Popcorn germplasm resistance to fungal diseases caused by *Exserohilum turcicum* and *Bipolaris maydis*. *Bragantia*. v. 77, n. 1, p. 36-47.
- Kurosawa, R.N.F., Vivas, M., Amaral Júnior, A.T., Santo, A., Mafra, G.S., Guimarães, A.G. and Schwantes I.A. (2016). Reaction of popcorn germplasm to polysora rust under field conditions and natural inoculation. *Tropical Plant Pathology*, 41, 415-422.
- Lima, J.S.S., Silva, S.A., Oliveira, R.B., Cecílio, R.A., Xavier, A.C. (2008) Variabilidade temporal da precipitação mensal em Alegre-ES. *Revista Ciência Agronômica*, v.39, n.2, p.327-332.
- Mafra, G.S., Amaral Júnior, A.T. do, Vivas, M., Santos, J.S., Silva, F.H.L., Guimarães, A.G., Pena, G.F. (2018) The combining ability of popcorn S₇ lines for *Puccinia polysora* resistance purposes. *Bragantia*, Campinas, v.77, n.4, p.519-526.

- Nihei, T.H., Ferreira, J.M. (2012) Análise dialélica de linhagens de milho com ênfase na resistência a doenças foliares. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 47: 369-377.
- Oliboni, R, et al. (2012) Genetic divergence among maize hybrids and correlations with heterosis and combining ability. *Acta Sci., Agron.* (Online), Maringá, v.34, n.1, p.37-44.
- Pacheco, C.A.P., Gama, E.E.G., Parentoni, S.N., Santos, M.X., Guimarães, P.E.O. (2005) Avanços no processo seletivo da variedade de milho pipoca BRS Ângela. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, 4: 436-444.
- Paraginski, R.T.; Souza, N.L.; Alves, G.H.; Ziegler, V.; Oliveira, M.; Elias, M.C. (2016) Sensory and nutritional evaluation of popcorn kernels with yellow white and red pericarps expanded in different ways. *Journal of Cereal Science*, v.69, p.383-391.
- Pena, G.F., Amaral Júnior, A.T.D., Gonçalves, L.S.A., Vivas, M., Ribeiro, R.M., Mafra, G.S., Dos Santos, A. & Scapim, C.A. (2016). Comparison of testers in the selection of S3 families obtained from the UENF-14 variety of popcorn. *Bragantia*, 75(2), 135-144.
- Pereira, M.G.; Amaral Júnior, A.T. (2001) Estimation of genetic components in popcorn base on the nested design. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, v.1, n. 1, p. 3-10.
- Ribeiro, R.M. Amaral Júnior, A.T. do, Pena, G.F., Vivas, V., Kurosawa, R.N., Gonçalves, L.S.A. (2016) History of northern corn leaf blight disease in the seventh cycle of recurrent selection of an UENF-14 popcorn population. *Acta Sci., Agron.*, Maringá, v.38, n.4, p.447-455.
- Sawazaki, E. (2001) A cultura do milho pipoca. *O Agrônomo*, Campinas, 53: 11-13.

- Scapim, C.A., Braccini, A.L., Pinto, R.J.B., Amaral Júnior, A.T.; Rodovalho, M.A., Silva, R.M., Moterle, L.M. (2006) Componentes genéticos de médias e depressão por endogamia em populações de milho-pipoca. *Ciência Rural*, v.36, n.1, p.36-41.
- Souza Neto, I.L. de, Pinto, R.J.B., Scapim, C.A, Jobim, C.C., Figueiredo, A.S.T, Bignotto, L.S. (2015) Análise dialélica e depressão endogâmica de híbridos forrageiros de milho para características agrônômicas e de qualidade bromatológica. *Bragantia*, Campinas, v. 74, n. 1, p. 42-49.
- Vencovsky, R. (1987) Herança quantitativa. In: Paterniani, E. (org) *Melhoramento e produção de milho no Brasil*. 2º ed. Fundação Cargil. p.122-201.
- Vieira, R.A., Rodovalho, M.A., Scapim, C.A., Tessmann D.J., Amaral Júnior, A.T., Bignotto, L.S. (2009) Desempenho agrônômico de novos híbridos de milho pipoca no noroeste do estado do Paraná, Brasil. *Acta Scientiarum Agronomy*, 31: 29-36.
- Vivas, M., Silveira, S.F., Viana, A.P., Amaral Júnior, A.T., Cardoso, D.L., Pereira, M.G. (2014). Efficiency of circulant diallels via mixed models in the selection of papaya genotypes resistant to foliar fungal diseases. *Genetics and Molecular Research*, 13, 4797-4804.

4. RESUMO E CONCLUSÕES

As doenças foliares estão entre as principais problemáticas da cultura do milho, sobretudo, no milho-pipoca. A Helminthosporiose causada pelo fungo *Bipolaris maydis* está associada a potencial de perdas significativas na cultura. Sua capacidade de redução de área foliar, provocada pela ação do patógeno pode reduzir em até 40% a produtividade de grãos. No milho-pipoca, apesar da identificação de ocorrência e da maior suscetibilidade em relação ao milho comum, ainda não foram realizados levantamentos do potencial de danos econômicos. Pouco se sabe sobre esse patossistema. Nesse contexto, foram realizados dois experimentos com objetivos de avaliar a resistência de linhagens de milho-pipoca ao *B. maydis*.

No primeiro experimento, com o objetivo de avaliar o potencial de linhagens S₄ de diferentes genealogias, foram estudadas 78 linhagens no delineamento de blocos aumentados, utilizando 6 testemunhas e 4 repetições. O experimento foi conduzido em casa de vegetação e, as plantas foram cultivadas em vasos plásticos preenchidos com 5 litros de substrato. A introdução do patógeno se deu via inoculação quando as plantas atingiram o estágio V4. O inóculo aplicado consistiu em solução de conídios em concentração de 2×10^4 conídio.mL⁻¹. Sete dias após a inoculação quantificou-se a incidência de folhas com sintomas da doença. Aos sete e quatorze dias após a inoculação, determinou-se a severidade da doença na folha. Conclui-se que dentre as linhagens avaliadas existem fontes de resistência a Helminthosporiose causada por *B. maydis*, e das quatorze genealogias de origem

das linhagens avaliadas, nove apresentaram potencial a serem exploradas em programas de melhoramento de milho-pipoca visando obtenção de resistência ao *B. maydis*.

No segundo experimento, objetivou-se avaliar o desempenho de linhagens S₇ quanto à resistência ao *B. maydis*, avaliadas em campo. Utilizou-se o delineamento de blocos casulizados, sendo avaliadas 35 linhagens em quatro repetições. Conduziu-se o experimento a campo, na área experimental do Ifes - Campus de Alegre, no Espírito Santo. Cada unidade experimental foi composta por três linhas de 2 metros com 11 plantas cada, espaçadas de 0,2 m x 0,9 m, entre plantas e linhas, respectivamente. As avaliações da doença foram realizadas duas semanas após o florescimento das plantas, onde se avaliou a incidência de folhas com sintomas da doença, severidade na planta e severidade na folha anexa a espiga. Ao final do ciclo, as espigas foram colhidas e, posteriormente, foram realizadas as avaliações de rendimentos de grãos e capacidade de expansão. Conclui-se que foi possível identificar linhagens como fontes de resistência ao *B. maydis* com bom potencial agrônômico e as linhagens L76; L70; L695; L692; L689; L685; L624; L623; L292 e L266 formaram o grupo promissor para resistência ao patógeno.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Altaf, M., Raziq, F., Khan, I., Hussain, H., Shah, B., Ullah, W., Naeem, A., Adnan, M., Junaid, K., Shah, S.R.A. and Attaullah, M.I. (2016). Study on the response of different maize cultivars to various inoculum levels of *Bipolaris maydis* (Y. Nisik & C. Miyake) shoemaker under field conditions. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 4, 533-537.
- Amaral Júnior, A.T., Gonçalves, L.S.A., Freitas Júnior, S.P., Candido, L.S., Vittorazzi, C., Pena, G.F., Ribeiro, R.M., Silva, T.R.C., Pereira, M.G., Scapim, C.A., Viana, A.P., Carvalho, G.F. (2013) UENF-14: a new popcorn cultivar. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 13:218-220.
- Andrade, R.A., Cruz, C.D., Scapim, C.A., Silvério, L., Pinto, R.J.B., Tonet, A. (2002) Análise dialélica da capacidade combinatória de variedades de milho-pipoca. *Acta Scientiarum*, Maringá, v.24, n.5, p.1197-1204.
- Araújo, W.M.C., Montebello, N.P.; Botelho, R.B.A.(2011) *Alquimia dos alimentos*. 2. ed. Brasília: Senac.
- Arnhold, E. (2008) Seleção para resistência a doenças foliares em famílias S₁ de milho-pipoca. *Revista Ceres*, Universidade Federal de Viçosa - Viçosa, 55(2):89-93.

- Burnette, D.C., D.G. White. (1985). Inheritance of resistance to *Bipolaris maydis* race O in crosses derived from nine resistance inbred lines of maize. *Phytopathology*. 75: 1195-1200.
- Byrnes, K.J., Pataky, J.K., Whith, D.G. (1989) Relationships between yield of three maize hybrids and severity of southern leaf blight caused by race O of *Bipolaris maydis*. *Plant Dis*. 73: 834–840.
- Camargo, L. E. A. (2018a) Genética da interação patógeno-hospedeiro. *In*: Amorim, L.; Rezende, J.A.M. & Bergamin Filho, A. (org) Manual de Fitopatologia. Volume 1 - Princípios e Conceitos. 5ª Edição. Editora Agronômica Ceres Ltda. São Paulo. 573p.
- Camargo, L.E.A. (2018b) Controle genético *In*: Amorim, L.; Rezende, J.A.M. & Bergamin Filho, A. (org) Manual de Fitopatologia. Volume 1 - Princípios e Conceitos. 5ª Edição. Editora Agronômica Ceres Ltda. São Paulo. 573p.
- Carvalho, N.L., Barcellos, A.L. (2012) Adoção do manejo integrado de pragas baseado na percepção e educação ambiental. *Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental* - REGET/UFSM n.5, v.5, p. 749 - 766.
- Casela, C. R., Ferreira A. S. da., Pinto, N. F. (2006) Doenças na Cultura do Milho. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. p.14. (Embrapa Agropecuária. Circular Técnica, versão eletrônica- 1 a edição).
- Coan, M.M.D., Pinto, R.J.B., Scapim, C.A. (2018) Melhoramento de Milho Especiais. *In*: De LIMA, R.O, Borém, A. Melhoramento de Milho. Ed. UFV, Viçosa, MG. p.396.
- Costa, R.V. da., Silva, D.D. da., Cota, L.V. (2014) Mancha de *Bipolaris* do Milho. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo. p. 4. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 207).

- Freitas Júnior, S.P., Amaral Júnior, A.T. do, Pereira, M.G., Cruz, C.D., Scapim, C.A. (2006). Capacidade combinatória em milho-pipoca por meio de dialelo circulante. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília , v. 41, n. 11, p. 1599-1607.
- Hussain, H., Raziq, F., Khan, I., Shah, B., Altaf, M., Attaullah, Ullah, W., Naeem, A., Adnan, M., Junaid, K., Shah, S.R.A. and Iqbal, M. (2016). *Effect of Bipolaris maydis* (Y. Nisik & C. Miyake) shoemaker at various growth stages of different maize cultivars. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 4, 439-444.
- Jones, J. D. G. and Dangl, J. F. (2006) The plant immune system. *Nature* 444, 323 – 329.
- Kamphorst, S.H., Lima, V.J. de, Schmitt, K.F.M., Leite, J.T., Azeredo, V.C., Pena, G.F., Santos, P.H.A.D., Santos Júnior, D.R, Silva Júnior, S.B. da, Bispo, R.B., Santos, T.O., Khan, S., Amaral Júnior, A.T. do. (2018) Water stress adaptation of popcorn roots and association with agronomic traits. *Genetics and Molecular Research*, v. 17, n. 3, p. 1–14.
- Kump, K.L., P.J. Bradbury, R.J. Wisser, E.S. Buckler, A.R. Belcher, M.A. Oropeza-Rosas, J.C. Zwonitzer, S. Kresovich, M.D. McMullen, D. Ware, P.J. Balint-Kurti, J.B. Holland. (2011) Genome-wide association study of quantitative resistance to southern leaf blight in the maize nested association mapping population. *Nat. Genet.* 43:163-168.
- Kurosawa, R.N.F., Vivas, M., Amaral Junior, A.T., Ribeiro, R.M., Miranda, S.B., Pena, G. F., Leite, J.T., Mora, F. (2017) Popcorn germplasm resistance to fungal diseases caused by *Exserohilum turcicum* and *Bipolaris maydis*. *Bragantia*. v. 77, n. 1, p. 36-47.
- Lim, S.M., A.L. Hooker. (1976) Estimates of combining ability for resistance to *Helminthosporium maydis* race O in a maize population. *Maydica*. 21: 121-128.
- Martinez, A.S., Franzener, G., Stangarlin, J.R. (2010) Dano causado por *Bipolaris maydis* em *Panicum maximum* cv. Tanzânia. *Ciências Agrárias*, 31: 863-870.

- Mendes de Paula, T.O.P., Gonçalves, L.S.A., Amaral Júnior, A.T., Oliveira, E.C., Silva, V.Q.R., Scapim, C.A. (2010) Magnitude of the genetic base of commercial popcorn and recommendation in Brazil. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 10, 289-297.
- Nihei, T.H., Ferreira, J.M.(2012) Análise dialéctica de linhagens de milho com ênfase na resistência a doenças foliares. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, DF, v.47, n.3, p.369-377.
- Nurnberger, T., Brunner, F., Kemmerling, B., Piater, L. (2004) Innate immunity in plants and animals, striking similarities and obvious differences. *Immunol. Rev.* 198, 249 – 266.
- Oliveira, E., Fernandes, F.T., Casela, C.R., Pinto, N.F.J.A., Ferreira, A.S. (2004) Diagnóstico e controle de doenças na cultura do milho. *In: GALVÃO, J.C.C., Miranda, G.V. (org). Tecnologias de produção do milho: economia, cultivares, biotecnologia, safrinha, adubação, quimigação, doenças, plantas daninhas e pragas. Viçosa, MG: UFV. p.227-268.*
- Pacheco, C.A.P, Gama, E.E.G, Guimarães, P.E.O, Santos M.X., Ferreira, A.S. (1998) Estimativas de parâmetros genéticos nas populações CMS-42 e CMS-43 de milho pipoca. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 33: 1995-2001.
- Pereira Filho, I.A., Pacheco, C.A.P., Cruz, J.C. (2010) A cultura do milho-pipoca. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, p.79, Coleção Plantar, 67.
- Pereira, M.G, & Amaral Júnior, A.T. (2001) Estimation of genetic components in popcorn based on the nested design. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 1(1), 3-10.
- POPCORN. (2019) Fatos da indústria. Disponível em: <<https://www.popcorn.org/Facts-Fun/Industry-Facts>>. Acesso em: 25 Janeiro. 2019.

- Reis, E.M., Casa, T., Bresolin, A.R. (2004) Manual de diagnose e controle de doenças do milho. Passo Fundo: Aldeia Norte, p.141.
- Rinaldi, D.A., Pipolo, V.C., Gerage, A.C., Ruas, C.F., Fonseca Júnior, N.S.F., Souza, A., Souza, S.G.H., Garbuglio, D.D. (2007) Correlação entre heterose e divergência genética estimadas por cruzamentos dialélicos e marcadores moleculares RAPD em populações de milho-pipoca. *Bragantia* 66: 183-192.
- Rodvalho, M.F. Mora, Mendes, E., Scapim, C.A. (2008) Survival heritability in 169 families of white grain popcorn: A Bayesian approach. *Ciencia e Investigación Agraria*, v. 35, n. 3, p. 303-309, 2008.
- Sabato, E.O.; Teixeira, F.F. (2015) Processos para Avaliação da Resistência Genética de Genótipos de Milho aos Enfezamentos Causados por Molicutes. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. p.8. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica 210, versão eletrônica- 1 a edição).
- Santos F.S., Amaral Júnior, A.T do, Freitas Júnior, S.P., Rangel, R.M., Scapim, C.A., Mora, F. (2008) Genetic gain prediction of the third recurrent selection cycle in a popcorn population. *Acta Sci. Agron. (Online)*, Maringá , v. 30, supl. spe, p. 651-655.
- Santos, J.S., Amaral Junior, A.T.do, Vivas, M., Mafra, G.S., Pena, G.F., Silva, F.H.L.E., Guimaraes, A.G. (2017) Genetic control and combining ability of agronomic attributes and northern leaf blight-related attributes in popcorn. *Genetics and Molecular Research*, 16.
- Sawazaki, E. (2001) A cultura do milho-pipoca no Brasil. *O Agrônomo*, v.53, n.2, p. 11–13.
- Scapim, C.A., Amaral Júnior, A.T. Vieira, R.A., Moterle, L.M., Teixeira, L.R., Viganó, J., Sandoval Júnior. (2010) Novos compostos de milho-pipoca para o Brasil. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 31, n. 2, p. 321-330.

- Scapim, C.A., Pinto, R.J.B., Amaral Júnior, A.T. do, Mora, F., Dandolini, S. (2006) Combining ability of white grain popcorn populations. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, v. 06, n. 01, p. 136-146.
- Schwantes, I.A., Amaral Júnior, A.T.do, Gerhardt, I.F.S., Vivas, M., Lima e Silva, F.H.de, Kamphorst, S.H. (2017) Diallel analysis of resistance to *Fusarium* ear rot in Brazilian popcorn genotypes. *Tropical Plant Pathology*, 42: 70-75.
- SENASA- Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria, Ministerio de Producción y Trabajo, Argentina. Maíz pisingallo – Estadísticas. Disponível em: www.argentina.gob.ar/senasa/programas-sanitarios/cadena-vegetal. Acesso em 27 de outubro de 2018.
- Singh, M. Mehra, R. Malik, V.K. (2018) Evaluation of Maize Genotypes against Maydis Leaf Blight Caused by *Bipolaris maydis* (Nisikado and Miyake) Shoemaker under Artificial Epiphytotic Conditions. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 7(5): 1006-1013.
- USDA. (2014) Census of Agriculture 2012, United States. v. 1, part 51.
- Vilarinho, A.A., Viana, J.M.S., Santos, J.R., Câmara, T.M.M. (2003) Eficiência da seleção de progênies S₁ e S₂ de milho-pipoca, visando à produção de linhagens. *Bragantia*, 62:9-17.
- Von pinho, R.G., Ramalho, M.A.P., Resende, I.C., Silva, H.P., Pozar, G. (2001) Reação de híbridos comerciais de milho às ferrugens polissora e tropical. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.36, n.3, p.439-445.
- Wit, P.J.G.M. (2007) How plants recognize pathogens and defend them selves cellular and molecular. *Life Sciences Swtzerland*, 64: 2726 - 2732.

Zinsly, J.R., Machado, J.A. (1987) Milho-pipoca. *In*: Paterniani, E., Viegas, G.P. (org) Melhoramento e produção do milho. Campinas, Fundação Cargill, p.413-421.