

SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE MILHO SUPERDOCE PARA RESISTÊNCIA À
HELMINTOSPORIOSE MAIDIS

JULIANA SANTA BARBARA COSTA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
FEVEREIRO – 2025

SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE MILHO SUPERDOCE PARA RESISTÊNCIA À
HELMINTOSPORIOSE MAIDIS

JULIANA SANTA BARBARA COSTA

“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
Mestra em Produção Vegetal”

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Vivas

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
FEVEREIRO – 2025

FICHA CATALOGRÁFICA

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pela autora.

C837

Costa, Juliana Santa Barbara.

SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE MILHO SUPERDOCE PARA RESISTÊNCIA À
HELMINTOSPORIOSE MAIDIS / Juliana Santa Barbara Costa. - Campos dos Goytacazes, RJ,
2025.

56 f. : il.

Inclui bibliografia.

Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Norte
Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2025.
Orientador: Marcelo Vivas.

1. *Zea mays* L.. 2. *shrunken2*. 3. Resistência genética. 4. Estresses bióticos.. I.
Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 630

SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE MILHO SUPERDOCE PARA RESISTÊNCIA À
HELMINTOSPORIOSE MAIDIS

JULIANA SANTA BARBARA COSTA

“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 Mestra em Produção Vegetal”

Aprovada em 27 de fevereiro de 2025

Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente
 **ROSENILDA DE SOUZA**
Data: 26/05/2025 12:42:07-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

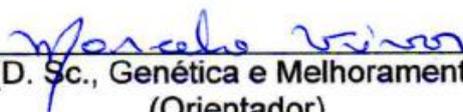
Rosenilda de Souza (D. Sc., Ciências) – INCAPER

Documento assinado digitalmente
 **GABRIEL MORENO BERNARDO GONCALVES**
Data: 27/05/2025 10:55:53-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Gabriel Moreno Bernardo Gonçalves (D. Sc., Genética e Melhoramento de Plantas) UENF



Prof. Roberto Ramos Sobrinho (D. Sc., Fitopatologia) – UENF


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

*A meu filho, Manuel Fernando, por ser a minha maior fonte de inspiração. Ao meu pai,
Francisco José, pelo exemplo de honestidade.*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus;

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) e ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal (PGPV) pela oportunidade de cursar o mestrado;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de mestrado, que viabilizou a realização desta pesquisa;

Ao meu orientador pela oportunidade e confiança, pela orientação ao longo de toda a pesquisa;

Aos meus colegas de laboratório agradeço pelo apoio técnico, pelas discussões enriquecedoras e pelo ambiente colaborativo que tanto contribuíram para o aprimoramento deste estudo;

Aos meus familiares e amigos muito obrigada pelo incentivo, compreensão e por sempre acreditarem em meu potencial;

Agradeço a todos que, de alguma forma, participaram da realização desta dissertação. Cada contribuição, por menor que tenha parecido, foi crucial para a concretização deste projeto.

SUMÁRIO

RESUMO.....	v
ABSTRACT	vii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1. Milho-doce	4
2.2. Aspectos econômicos do milho-doce.....	7
2.3. Helmintosporiose maidis	10
2.4. Melhoramento genético visando a resistência à doença.....	12
3. OBJETIVOS.....	16
3.1. Objetivo geral.....	16
3.2. Objetivos específicos	16
4. MATERIAL E MÉTODOS	17
4.1. Material vegetal.....	17
4.2. Seleção em condições de infecção natural.....	17
4.3. Seleção com inoculação em casa de vegetação	21
4.4. Análises estatísticas.....	22
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
5.1. Avaliação de campo em condições de infecção natural.....	25
5.1.1. Dispersão da doença na área.....	25
5.1.2. Análise individual e conjunta.....	28
5.1.3. Comparação entre as safras.....	36
5.2. Avaliação da resistência sob inoculação em casa de vegetação	39
6. CONCLUSÃO	43
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44

RESUMO

COSTA, Juliana Santa Barbara; M.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; fevereiro de 2025; Seleção de genótipos de Milho Superdoce para Resistência à Helmintosporiose maidis; Orientador: D.Sc. Marcelo Vivas.

O milho-doce é considerado uma importante hortaliça de grande destaque mundial, que vem enfrentando desafios em sua produção e qualidade, principalmente devido ao elevado número de manchas foliares causadas por fungos fitopatogênicos. A mancha de helmintosporiose maidis (MHM), causada por *Bipolaris maydis*, destaca-se como uma das doenças prejudiciais à cultura do milho-doce. Dentre as estratégias de manejo, o uso de genótipos resistentes é considerado a alternativa mais eficaz e de menor impacto ambiental no controle da doença. Neste contexto, o objetivo do presente trabalho foi identificar fontes de resistência em um conjunto de vinte e cinco linhagens endogâmicas de milho superdoce portadores do gene *sh2*. Os ensaios foram conduzidos em dois ambientes (safra I e II) sob condições de infecção natural, no delineamento de blocos casualizados com duas repetições. Para avaliar a incidência e severidade dos sintomas da MHM, foram realizadas quatro avaliações com intervalos de sete dias e as médias obtidas nas unidades experimentais foram empregadas nas análises estatísticas. Por sua vez, as médias de incidências foram utilizadas no estudo da distribuição espacial da doença em condições de campo. Para confirmar o desempenho das linhagens no campo, a severidade foi quantificada em um experimento instalado em casa de vegetação, sob inoculação artificial. A inoculação ocorreu quando as plantas apresentaram de cinco a seis folhas totalmente expandidas, e as avaliações foram iniciadas sete dias após a inoculação, com três avaliações realizadas com intervalo de cinco dias. Os dados obtidos com base nas avaliações de severidade foram utilizados para o cálculo da área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD), que foi submetida à análise de variância, seguido do agrupamento de médias pelo algoritmo de Scott Knott. A incidência da doença se manteve superior a 93% em todos os ensaios, garantindo uma precisão suficiente para identificação de linhagens suscetíveis a MHM. Foi observada variabilidade entre os genótipos em relação à reação ao patógeno, com 18 genótipos apresentando potencial de resistência no ensaio de campo. Dentre os genótipos que apresentaram

os menores índices de severidade nas condições de infecção natural, os genótipos L205, L198, L197, L201, L192, L207, L187, L181 e L180 mantiveram o desempenho pelo método de inoculação artificial. Desse modo, essas linhagens foram consideradas fontes confiáveis de resistência, destacando-se como promissoras para o desenvolvimento de futuras cultivares resistentes a *Bipolaris maydis* de milho superdoce no âmbito do programa de melhoramento genético de milho-doce da UENF.

Palavras-chave: *Zea mays* L., *shrunken2*, resistência genética, estresses bióticos.

ABSTRACT

COSTA, Juliana Santa Barbara; M.Sc.; State University of Northern Fluminense Darcy Ribeiro; february 2025; Selection of Sweet Corn Genotypes for Resistance to Helminthosporiosis maidis; Adviser: D.Sc. Marcelo Vivas.

Sweet corn is considered an important vegetable of great global significance, facing challenges in its production and quality, mainly due to the high number of leaf spots caused by phytopathogenic fungi. Southern corn leaf blight (SCLB), caused by *Bipolaris maydis*, stands out as one of the most harmful diseases affecting sweet corn cultivation. Among management strategies, the use of resistant genotypes is considered the most effective and environmentally friendly alternative for disease control. In this context, the objective of this study was to identify sources of resistance in a set of twenty-five inbred lines of supersweet corn carrying the *sh2* gene. The trials were conducted in two environments (seasons I and II) under natural infection conditions, using a randomized block design with two replications. To assess the incidence and severity of SCLB symptoms, four evaluations were performed at seven-day intervals, and the means obtained in the experimental units were used for statistical analyses. Additionally, incidence means were used to study the spatial distribution of the disease under field conditions. To confirm the performance of the lines in the field, severity was quantified in a greenhouse experiment under artificial inoculation. Inoculation was performed when the plants had five to six fully expanded leaves, and evaluations began seven days after inoculation, with three assessments conducted at five-day intervals. The data obtained from severity evaluations were used to calculate the area under the disease progress curve (AUDPC), which was subjected to analysis of variance, followed by mean clustering using the Scott-Knott algorithm. Disease incidence remained above 93% in all trials, ensuring sufficient precision for identifying SCLB-susceptible lines. Variability was observed among the genotypes in their response to the pathogen, with 18 genotypes showing resistance potential in the field trial. Among the genotypes with the lowest severity indices under natural infection conditions, L205, L198, L197, L201, L192, L207, L187, L181, and L180 maintained the same performance under the artificial inoculation method. Thus, these lines were considered reliable sources of resistance, standing out as promising candidates for the

development of future resistant supersweet corn cultivars within the sweet corn breeding program at UENF.

Keywords: *Zea mays* L., *shrunken2*, genetic resistance, biotic stresses.

1. INTRODUÇÃO

O milho é uma planta da divisão Magnoliophyta, ordem Poales, da família Poaceae, do gênero *Zea* e da espécie *Zea mays* (L.). A planta é de caráter monoico, apresenta reprodução predominantemente alógama com baixa taxa de autofecundação, sendo caracterizado por uma estrutura foliar que divide a planta em três partes: bainha, limbo e colar. Com origem na América Central e posteriormente se espalhando para América do Sul e América do Norte, o milho foi domesticado ao longo de milhares de anos, tornando-se uma das plantas cultivadas com maior expressão comercial no mundo (Brown e Goodman, 1977; Aragão, 2002).

Devido ao ciclo de cultivo anual e ao metabolismo fotossintético C4, que garante uma alta adaptabilidade do milho às condições edafoclimáticas do país (Wolfe et al., 1997), o Brasil consolidou-se como o principal exportador mundial do grão na safra 2022/23, conforme os dados do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA). Essa produção deve-se principalmente à importância econômica da cultura tanto na alimentação humana e animal quanto para o setor de biocombustível.

O milho apresenta considerável variabilidade genética e fenotípica que o possibilita categorizá-lo em variedades com base em características que influenciam suas propriedades e aplicabilidade. Dentre essas variedades, destaca-se o milho-doce, considerado um tipo especial de milho que se diferencia do milho comum pela ação de genes mutantes recessivos que alteram a composição química dos grãos, reduzindo a conversão de açúcares em amido no endosperma (Tracy, 2001; Teixeira et al., 2022). Essas alterações culminam em mudanças na textura, sabor e aroma dos grãos (Tracy et al., 2001).

Dependendo do gene recessivo atuante, o milho-doce pode apresentar diferentes proporções de açúcar que o subdividem em dois tipos/grupos, doce e superdoce. O milho superdoce além de possuir os maiores teores de açúcar também garante um período de pós-colheita mais extenso, por retardar a conversão de açúcar em amido (Okumura et al., 2013; Gonçalves et al., 2020).

O milho-doce é considerado uma hortaliça, apreciada pelos seus consumidores em virtude do seu sabor adocicado e seu fornecimento de carboidratos, proteínas, fibras, vitaminas e sais minerais (Hossain et al., 2018; Chhabra et al., 2019; Teixeira et al., 2022). No estágio de desenvolvimento ainda verde (grão leitoso), os grãos são

tenros e apresentam maior proporção de sacarose e melhor qualidade nutritiva, tornando-o indicado ao consumo *in natura* ou processados pela indústria, na forma de enlatados (Tosello 1987; Tracy 2001).

Por ser considerado uma opção saudável devido aos seus benefícios nutricionais, a produção e consumo do milho-doce têm se expandido por todo o mundo. Atualmente, os Estados Unidos lideram como o maior produtor e consumidor do produto, com a produção concentrada na região Norte do país (USDA, 2023). Além disso, a Tailândia e o Sul do Canadá destacam-se também na produção de milho-verde seguido de países europeus, asiáticos e tropicais (Chen et al., 2024).

No Brasil, a produção de milho-doce está direcionada em atender à demanda industrial de alimentos, sendo comercializada na forma de produtos processados e enlatados (Teixeira et al., 2019). Observa-se uma menor procura pelo milho fresco, principalmente devido às condições de mercado, que são influenciadas pelas preferências regionais, pela dinâmica de demanda do consumidor e pela ausência de investimentos que melhore o desempenho da cultura no campo (Pereira et al., 2019).

A baixa popularidade, decorrente do pouco conhecimento a respeito do milho-doce, leva ao uso contínuo do milho comum colhido no estado de leite para consumo fresco (Teixeira et al., 2001). Embora esse milho comum seja consumido, ele não possui as características específicas ideais, o que torna o milho-doce mais apropriado e desejável para o consumo *in natura*.

Apesar do Brasil se apresentar, nas sucessivas safras, como um dos maiores produtores mundiais milho comum, ainda detém baixos níveis de produtividade para o milho-doce. Um dos principais fatores que limitam a expansão da cultura no Brasil é a escassez de genótipos adaptados às condições específicas de cada região (Souza et al., 2021). A baixa disponibilidade de cultivares produtivas adaptadas e os problemas relacionados ao manejo, como ataque de pragas, são fatores que interferem no crescimento do cultivo da cultura por limitar a lucratividade final da produção (Silva et al, 2021). Embora as condições climáticas nas regiões brasileiras ofereçam um ambiente propício para a expansão do milho-doce, também favorecem o desenvolvimento de doenças, que resultam em consequências, como severas perdas de produtividade e o declínio da qualidade (Bersch et al., 2021).

As principais doenças que exercem influência prejudicial sobre o cultivo de milho em geral e ocasionam perdas substanciais de produtividade, são aquelas de origem fúngicas (Nihei e Ferreira, 2012). Dentre as doenças causadas por fungos,

destaca-se a Helmintosporiose maidis, ocasionada pelo fungo *Bipolaris maydis* (Y. Nisikado & C. Miyake) Shoemaker - Basiônimo: *Helminthosporium maydis* Y. Nisik. & C. Miyake - que em 1970 ficou conhecido por ser responsável por desencadear uma das mais devastadoras epidemias na história da fitopatologia (Ullstrup, 1972).

O fungo *Bipolaris maydis* em condições ambientais propícias para o seu desenvolvimento, ataca a superfície foliar, reduzindo a área fotossintética da planta, e quando associado a genótipos suscetíveis às perdas podem ser superiores a 70% do rendimento (Ali et al., 2011; Nihei e Ferreira, 2012, Hussai et al., 2016).

Para atingir a produtividade em campo e atender a demanda de alimento exigida pelo mercado, o combate à doença se torna necessário. Entre as alternativas de controle disponíveis, o uso de resistência genética é a chave para melhorar o desempenho das variedades impactadas pela doença foliar (Saluci et al., 2023). O controle genético além de diminuir os riscos de contaminação do ambiente decorrentes do uso excessivo de pesticidas, também contribui para a redução dos custos de produção, oferecendo materiais mais produtivos e com maior qualidade, capazes de atender às exigências do mercado (Camargo et al., 2012).

A expansão do milho-doce depende da disponibilidade de híbridos comerciais adaptados a diversas condições ambientais, que não apenas sejam produtivos, mas também resistam a patógenos. A identificação de fontes de resistência é essencial para garantir um crescimento sustentável da cultura. Dessa forma, a Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) tem desempenhado um papel crucial ao selecionar linhagens promissoras de milho superdoce em seu Banco de Germoplasma, considerando a resistência ao fungo *B. maydis*.

O presente estudo teve como objetivo identificar linhagens de milho superdoce resistentes à *B. maydis*. As informações adquiridas neste estudo serão fundamentais para fornecer materiais genéticos promissores a serem testados por meio de combinações de genitores, visando a produção de híbridos superiores.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Milho-doce

O milho O milho-doce (*Zea mays* L. grupo saccharata) originou-se a partir de uma mutação espontânea do milho comum em meio ao processo de domesticação da cultura nas Américas.

Classificado como um tipo especial de milho, o milho-doce é prioritariamente destinado ao consumo humano, devido às modificações ocorridas que alteram sua concentração de açúcares e conferem maior palatabilidade aos seus produtos (Reyes et al., 1982).

O milho-doce diferencia-se dos demais tipos de milho por apresentar genes mutantes recessivos que influenciam a biossíntese de carboidratos, impedindo a conversão de açúcar em amido (Tracy et al., 2001; Teixeira et al., 2013). Essa condição provoca alterações na forma, cor, tamanho, conteúdo nutricional, aroma e consistência dos grãos (Tracy et al., 2001; Teixeira et al., 2022).

Do ponto de vista fenotípico, o grupo do milho-doce pode ser categorizado como doce e superdoce, dependendo do gene mutante atuante no seu endosperma (Tracy, 2001; Teixeira et al., 2022). Entre os principais genes que atuam isoladamente ou em conjunto, associados em combinações duplas ou triplas, que conferem o caráter doce e superdoce aos grãos, destacam-se o gene *amylose-extender* (*ae1*), *dull1* (*du1*) e *sugary-1* (*su1*) para o grupo do milho-doce, e *brittle1* (*bt1*), *brittle* (*bt2*) e *shruken* (*sh2*) para o grupo do milho superdoce (Tabela 1) (Tracy, 1993; Tracy, 2001; Suzukawa et al., 2018).

Conforme Tracy (2001) e Aragão et al., (2002), os alelos que expressam o caráter superdoce tem como característica desejável, a capacidade de causar o bloqueio severo da conversão de açúcares em amido, resultando em variedades com teores mais elevados de açúcar e um menor teor de carboidratos totais. As cultivares de milho superdoce também conservam o teor de açúcar por um maior período em comparação com as demais variedades de milho-doce, o que possibilita o prolongamento do período de colheita e proporciona uma ampla janela para o armazenamento comercial do milho colhido fresco (Tracy, 2001; Chhabra et al., 2019).

O manejo pós-colheita também assume um papel crucial na preservação da qualidade dessas variedades, uma vez que ambas são altamente perecíveis, em virtude da intensa atividade metabólica.

Tabela 1. Alelos mutantes de endosperma presentes no milho-doce.

Alelo	Símbolo	Enzima	Fenótipo
<i>amylose- extender 1</i>	<i>ae1</i>	Ramificação do amido Lib	Doce
<i>brittle 1</i>	<i>bt1</i>	Oligossacarídeo sintase	Superdoce
<i>brittle 2</i>	<i>bt2</i>	ADP-glucose fosforilase	Superdoce
<i>dull1</i>	<i>du1</i>	Amido solúvel sintase	Doce
<i>shrunken 2</i>	<i>sh2</i>	ADP-glucose pirofosforilase	Superdoce
<i>sugary 1</i>	<i>su1</i>	Desramificação de amido isoamilase	Doce
<i>sugary enhancer 1</i>	<i>se1</i>	Desconhecido	Superdoce

Fonte: Adaptado de Tracy (2001)

Como desvantagem para o grupo superdoce, observa-se um inferior índice de acúmulo de polissacarídeos solúveis, responsáveis por conferir texturas desejáveis aos grãos, tanto para o consumo *in natura* quanto para a utilização em industrializados (Tosello, 1987; Aragão, 2002; Oliveira Junior et al., 2006). Já no contexto do grupo do tipo doce, os alelos mutantes presentes, levam a um maior acúmulo do teor de fitoglicogênio (polissacarídeo solúvel) que, em níveis elevados, confere ao endosperma a textura mais suave e cremosa (Dodson-Swenson e Tracy, 2015; Gava et al., 2021). Dessa forma, as cultivares que apresentam alelos que as caracterizam como doce possuem um teor de açúcar em torno de 9% a 14% e de amido entre 30 e 35%, já as variedades de caráter superdoce, os teores de açúcar podem chegar a 25% e variar de 15 a 25% de amido (EMBRAPA, 2021).

O acúmulo de nutrientes também pode variar para os diferentes tipos de milho, dependendo do gene mutante atuante, da cultivar utilizada, do estágio de maturação em que a semente se encontra e das condições climáticas durante o período de cultivo (Tosello 1987; Silveira et al., 2021). Em geral, o milho-doce é considerado mais proteico que o milho comum, por apresentar uma redução no acúmulo de amido que

leva a um aumento no teor de proteínas no endosperma (Goldman e Tracy, 1994). Entre suas propriedades estão sua ação antioxidante, importante no combate a doenças como câncer e diabetes, e a presença de vitaminas do complexo B que são essenciais para saúde humana (Aziz et al., 2019; De Mejia, 2020; Cruz et al., 2022).

Para preservar a doçura que o caracteriza como um milho especial, a colheita do milho-doce é realizada na fase de grãos leitoso, quando os grãos não estão totalmente maduros, com as espigas apresentando cerca de 70% a 80% de umidade, (Williams e Martin, 2014). Também nesse estágio de desenvolvimento, os grãos apresentam o maior valor nutricional e uma maior concentração de açúcares. Contudo, dependendo do gene mutante que se expressa no endosperma, o prazo de validade da espiga pode ser reduzido, pois a conversão de açúcar em amido tende a aumentar em diferentes velocidades com a evolução do processo de maturação, alterando a maciez e tornando os grãos duros, amiláceos, e sem o sabor adocicado (Dodson-Swenson e Tracy, 2015).

A presença dos diferentes alelos, que proporcionam aos genótipos um diferente sabor e promovem alterações em sua composição química, também é responsável pela formação de espaços internos, que confere um aspecto enrugado às sementes quando secas, e pela formação da película fina e translúcida do pericarpo com avanço da maturação (Nascimento et al., 1994; Aragão et al., 2003). A espessura da camada do pericarpo é considerada um fator importante na determinação de qualidade, por influenciar o nível de maciez do grão (Ito e Brewbaker, 1981; Tracy e Galinat, 1987). Além disso, tais genes exercem influência nos processos metabólicos que afetam a germinação da semente, fazendo com que a média de germinação para a comercialização de sementes certificadas de milho-doce seja reduzida para aproximadamente 65%, em comparação com o milho comum, que apresenta uma taxa de 80% (Aragão et al., 2003; Zhao et al., 2007; Camargo et al., 2008).

Em genótipos de milho superdoce, as consequências são mais agravantes, por se tratar de semente com maior fragilidade no seu sistema de membranas, resultando em menor resistência a danos mecânicos e maior suscetibilidade ao ataque de insetos e fungos patogênicos (Tracy, 2001; Okumura et al., 2013). As sementes também apresentam maiores índices de deterioração, o que, de modo geral, compromete o seu vigor e o padrão de emergência em condições de campo (Aragão et al., 2003; Zhao et al., 2007). Entretanto, não se sabe se o baixo vigor das sementes é decorrente

de uma menor reserva de amido presente no endosperma e/ou de um embrião considerado inferior (Azanza et al., 1996; Tracy, 2001).

As cultivares de milho-doce são pouco difundidas nas regiões brasileiras principalmente devido à falta de conhecimento e a escassez de materiais (Lima et al., 2020). Atualmente, a maior parte dos híbridos comerciais cultivados no Brasil para o processamento industrial possuem o gene *shrunken2* (*sh2*), associados ao fenótipo superdoce (Teixeira et al., 2014; Dodson-Sweson e Tracy, 2015; Baveja et al., 2021). O mutante *shrunken-2* (*sh2*), localizado no cromossomo 3, contém cerca de 33,5% de sacarose e apresenta boa qualidade nutritiva o que o torna apropriado para o consumo interno (Azanza et al., 1996; Dodson-Sweson e Tracy, 2015).

Compreender as variedades de milho-doce é de essencial importância, não apenas para orientar estratégias de manejo eficazes, mas também para obter um maior retorno econômico. Esse conhecimento não só garante uma execução precisa do cultivo, mas também desempenha um papel crucial no aumento da produtividade agrícola no Brasil.

2.2. Aspectos econômicos do milho-doce

O milho-doce é considerado um produto da cultura hortícola de alto valor agregado, por apresentar elevado valor nutricional e uma maior maciez em seus grãos, que confere qualidade superior ao produto consumido *in natura* ou industrializado, na forma de enlatados (Chhabra et al., 2019; Teixeira et al., 2022)

O cultivo de milho-doce pode ser uma atividade econômica lucrativa, por representar uma fonte de carboidrato de alto valor proteico em comparação com as outras variedades de milho, sendo mais atrativo ao consumidor (Goldman e Tracy, 1994; Carmo et al., 2012). Como produto comercial de uso alimentar, ele pode ser consumido em conserva, congelado, desidratado ou como *baby corn* (minimilho): que consiste na inflorescência feminina colhida precocemente, antes do processo de polinização (Tracy, 2001; Reis et al., 2011, Quanto et al., 2023). O milho-doce também conferem sabores e aromas à indústria de alimentos ultraprocessados. Contudo, a presença do alto teor de açúcar inviabiliza o uso desse tipo de milho para confecção de pratos que necessitam maiores índices de amido, como pamonha e curau.

Apesar das espigas de milho-doce serem destinadas principalmente ao consumo humano, por se tratar de uma variedade colhida precocemente, com a planta ainda verde, suas partes vegetativas (folhas e colmo) que são deixadas no campo podem ser aproveitadas para a alimentação animal por meio da produção de silagem (Teixeira et al., 2001; Bhandari et al., 2017).

O milho-doce é considerado uma hortaliça de grande popularidade nos EUA, o que justifica a sua alta demanda de produção (Bordallo et al., 2005; Morton et al., 2017). Atualmente os EUA é considerado o maior produtor dessa variedade, concentrando sua produção na região norte do país, nos estados de Flórida, Califórnia, Geórgia, Washington e Minnesota (USDA, 2023).

De acordo com os dados do departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), no ano de 2022 a produção de milho-doce nos EUA totalizou 57,2 milhões de toneladas, em uma área plantada de 355.100 acres (143.703,872 hectares). Destas, 13 milhões de toneladas foram destinadas para o mercado *in natura* e 2,20 milhões de toneladas foram direcionadas para produtos processados (enlatados e congelados). Outros países tradicionais no consumo e cultivo do milho-doce que apresentam uma relativa produtividade foram, a Tailândia e o sul do Canadá (USDA, 2023). Países como Nigéria, Ucrânia, Turquia, China, Japão, França e países tropicais, também possuem alguma produtividade, embora em menor escala (Chen et al., 2024). O consumo do milho-doce também vem se tornando popular na Índia, mas ainda, grande parte dos seus mercados são abastecidos pela exportação (Ugur e Maden, 2015).

Essa ampla diversidade geográfica de produção destaca a relevância global do milho-doce. O desempenho dos papéis distintos na produção e no consumo nas diferentes regiões, ressalta a versatilidade da cultura e permite reforçar a sua importância economia local e na exportação.

Atualmente o Brasil se destaca como o principal exportador de milho comum do mundo, respondendo por 32% das exportações mundiais de acordo com dados do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), referente à safra de 2022/2023. Essa posição representa o grande potencial do país em produzir o milho-doce, principalmente por proporcionar condições climáticas favoráveis que garantem a possibilidade de cultivo o ano todo (Bordallo et al., 2005).

Contudo, a baixa popularidade do produto no mercado consumidor interno, a limitada disponibilidade de cultivares adaptadas às condições edafoclimáticas de

regiões específicas e o atual panorama de mudanças climáticas que exige o constante desenvolvimento de novas cultivares, têm dificultado a expansão da cultura, impedindo que o Brasil alcance uma posição de destaque em produtividade (Santos et al., 2014; Silva et al., 2021). Em janeiro de 2024, de acordo com o Ministério da Agricultura e Pecuária, haviam registradas 126 cultivares de milho-doce, dos quais 70 são híbridos ou populações e os demais consistem em linhagens parentais. Desses híbridos, menos da metade se encontram disponíveis no mercado a acesso do produtor.

A produção de milho-doce se encontra concentrada nos estados Rio Grande do Sul, Minas Gerais, São Paulo e Goiás, onde grande parte da produção é destinada principalmente ao processamento industrial (enlatado) (Camilo et al., 2015; Teixeira et al., 2018). Dados oficiais de caráter atual referentes a área plantada e a produtividade de milho-doce, não foram encontrados, pois grande parte do milho comercializado para consumo humano *in natura* ainda pertence ao tipo comum, o que dificulta o processo do levantamento de produção do milho-doce no Brasil (Cruz, 2014).

De modo geral, a expansão da cultura pelo território nacional além de abastecer o setor industrial pode ser tornar uma alternativa economicamente rentável para os pequenos agricultores responsáveis pelo abastecimento dos mercados internos, devido ao valor que é agregado às espigas comercializadas. Além disso, a incorporação de uma nova fonte de subsistência na agricultura familiar não só reduz a vulnerabilidade econômica ao diversificar a fonte de renda, mas também promove a incorporação de um novo alimento que garante uma dieta nutritiva à população brasileira e impulsiona o desenvolvimento econômico sustentável das comunidades rurais. Resultados do desenvolvimento econômico com a introdução da cultura em meio do sistema de cultivos dos pequenos agricultores podem ser vistos no país do Equador, onde a agricultura familiar é responsável por 85% da produção de milho-doce (Logroño e Herrera, 2020).

Essa baixa demanda no território nacional ocorre devido às cultivares ainda serem pouco difundidas no Brasil, principalmente pela carência de conhecimento sobre seus benefícios para os consumidores (Santos et al., 2014; Lima et al., 2020). No âmbito dos produtores, a sensibilidade das sementes ao campo, a falta de informações sobre o manejo e a interferência dos fatores bióticos, especialmente as doenças causadas por fungos, também geram preocupação no cultivo de milho-doce.

Esses fatores, afetam nos mais diferentes níveis a produtividade e a qualidade das espigas, tornam-se barreiras que impedem o aumento da área plantada no Brasil.

2.3. Helminthosporiose maidis

A helmintosporiose maidis, causada pelo fungo *Bipolaris maydis* (Nisik, Miyake e Shoemaker (1959), fase teleomórfica *Cochliobolus heterostrophus* (Drechsler) Drechsler), é considerada uma das doenças foliares mais importantes para a cultura do milho, por causar, danos ao aparato fotossintético da planta levando a severas perdas de produtividade e qualidade dos grãos.

A existência da doença já era conhecida desde 1923 nos Estados Unidos, (Robert, 1953), mas só se tornou um problema relevante após o episódio epidêmico de 1970. Nessa época, quase todos os híbridos produzidos no país eram advindos de cultivares que continham o gene da esterilidade masculina citoplasmática do Texas, que eram altamente suscetíveis à raça T do fungo *Bipolaris maydis* (Ullstrup, 1972; Nopsa et al., 2014). A homogeneidade da população hospedeira suscetível ao patógeno em condições apropriadas para o seu desenvolvimento (Nopsa et al., 2014) desencadeou uma das epidemias mais prejudiciais na história da fitopatologia. A severidade da doença que incidia nas plantas foi intensa, devastando centenas de hectares, levando a um colapso na agricultura e em perda econômica expressiva (Ullstrup, 1972; Chen et al., 2018).

No Brasil, não há registro de situações epidêmicas semelhantes, no entanto, estudos relatam que a doença pode ser bastante destrutiva (Ali e Yan, 2012; Hussai et al., 2016). Com o seu surgimento precoce nas lavouras de milho, durante os estádios iniciais de desenvolvimentos da cultura, em conjunto com um ambiente favorável para seu crescimento, o aumento da severidade pode reduzir a área fotossintética da planta e provocar, em cultivares suscetíveis, perdas de rendimento superior a 70% (Huang et al., 2010; Ali et al., 2011; Hussain et al., 2016; Kurosawa et al., 2016).

Entretanto, essas perdas podem variar conforme a interação dos fatores que contribuem para o aumento da incidência da doença no campo. O desenvolvimento da doença é favorecido em ambientes com temperaturas variando entre 22°C e 30°C,

associada à alta umidade, ao uso de genótipos suscetíveis e à recorrência do plantio da mesma variedade em sucessivas épocas (Martinez et al., 2010; Meshram et al., 2022). O sistema de plantio direto também pode apresentar um viés que contribui para prevalência da doença no campo, por ser considerado uma prática que consiste na permanência de restos culturais deixados no solo da cultura anterior. Esses resíduos tornam-se responsáveis por criar condições favoráveis para a persistência do patógeno na área até que ele encontre as condições ambientais propícias para dar início a epidemia (Parreira et al., 2014). Quando a doença se encontra estabelecida, a disseminação do patógeno pode ocorrer por meio de respingos de chuva (irrigação) ou pelo vento.

Os sintomas da mancha foliar do milho podem variar de acordo com a raça do fungo responsável por causar a doença (Ali et al., 2011). Até o momento, foram registradas a ocorrência de três raças fisiológicas do fungo *B. maydis* para cultura do milho, denominadas 'C', 'T' e 'O' (Chagas, 2015; Saluci et al., 2023). As raças "T" e "C" são patógenos causadores de doenças em genótipos de milho que apresentam o citoplasma macho-estéril (cms-T e cms-C). A raça "O" predominante em áreas tropicais e subtropicais, possui uma ampla distribuição, prevalecendo em todo o mundo e causando danos em qualquer genótipo, independentemente do tipo de citoplasma que possui (Costa et al., 2014; Mubeen et al., 2017; Meshram et al., 2022). Atualmente, é considerada a raça prevalente no território nacional (Saluci et al., 2023).

Nos países produtores de milho, foi observado um aumento da proporção de plantas atacadas pelo patógeno específico da raça "O" de *B. maydis*, após o desuso das variedades de milho que apresentavam o cms-T. (Wang et al. 2010). No entanto, as informações que relacionam os sintomas e as raças ao milho-doce ainda são pouco difundidas.

O fungo da raça "O", ataca a planta causando sintomas que os qualificam como manchas foliares. As lesões inicialmente são pequenas e ovais, tornando-se com a evolução do sintoma, alongadas, retangulares, de coloração palha e limitada pela nervura.

Para combater os efeitos causados pela doença, mesmo com a ausência de produtos registrados para o controle de *B. maydis*, é indicado como controle preventivo o uso de pesticidas, comumente utilizados em lavouras de milho (Pate et al., 2017; Ferreira et al., 2024). Entretanto, o uso dessas substâncias químicas deve ser gerenciado de forma responsável, pois o excesso de resíduos pode comprometer

negativamente o meio ambiente e a saúde humana. Os pesticidas têm como malefício causar efeitos nocivos nos organismos não alvo, como insetos benéficos e organismos aquáticos, levando a diminuição da biodiversidade e um desequilíbrio no ecossistema (Carvalho et al., 2020). Além de afetar a fauna, o escoamento dos produtos químicos pode contaminar recursos hídricos, o solo, e causar intoxicação em seus aplicadores. Ainda, dependendo da forma de manejo adotada, aplicações excessivas podem resultar em altos custos de produção.

Para mitigar essas preocupações, práticas agrícolas, como a rotação de culturas e o uso de cultivares resistentes, são consideradas alternativas que oferecem uma abordagem de menor impacto no manejo fitossanitário (Camargo, 2018; Ferreira et al., 2024).

Atualmente a presença da resistência genética em lavouras é apontada como uma das alternativas que denotam maior eficiência no controle de doenças em plantas (Saluci et al., 2023), sendo considerada como um atributo fundamental que garante às lavouras uma proteção eficaz contra doenças específicas.

2.4. Melhoramento genético visando a resistência à doença

O melhoramento vegetal de plantas refere-se aos métodos aplicados com o intuito de reunir todos os atributos desejáveis possíveis em uma planta, visando obter variedades que atendam às condições específicas da agricultura, indústria e às necessidades da sociedade em geral. No caso do milho-doce, é crucial que o melhoramento genético leve em consideração as características promissoras destinadas tanto para a indústria quanto para o consumo *in natura* (Barbieri et al., 2008). O aprimoramento dessas características resultará em um produto adequado para atender às demandas específicas de cada nicho de mercado.

O foco do aprimoramento concentra-se especialmente nas características agrônômicas, como resistência a pragas e doenças, tolerância a estresses abióticos, adaptabilidade e uniformidade. Essa abordagem visa proporcionar condições de cultivo mais favoráveis, aumentar o rendimento e potencializar as propriedades organolépticas dos produtos (Gama et al., 2000).

Entre os fatores que contribuem com os baixos índices de produtividade estão as doenças foliares. Em geral, as doenças foliares são conhecidas por causar reduções drásticas no rendimento e interferir negativamente na qualidade final dos grãos (Da Silva et al., 2020; Santos et al., 2020). Um dos principais fatores contribuintes para o agravamento do surgimento dessas doenças é o aumento da fonte de inóculo promovido por sucessivas safras e pela adoção do sistema de plantio direto (Arnhold, 2008; Souza et al., 2020). Entre as opções de controle, o uso de genótipos com resistência a patógenos é considerado uma estratégia eficaz em mitigar os efeitos prejudiciais gerados pela severidade desses agentes causais (Nihei e Ferreira, 2012).

Conforme Parlevliet (1997), a capacidade de defesa ligada à resistência genética é definida como a capacidade do hospedeiro em impedir e/ou atrasar o desenvolvimento da doença, evitando assim a ocorrência de uma epidemia. A expressão da resistência da planta é determinada pela dinâmica estabelecida entre a interação patógeno-hospedeiro e pela natureza evolutiva dessa relação.

De acordo com Van Der Plank (1966), entre os diferentes mecanismos de defesa da planta, a resistência pode atuar em duas formas distintas: como resistência vertical (RV) e resistência horizontal (RH). A resistência vertical, também conhecida como resistência monogênica, possui efeito qualitativo e é caracterizada por ser dominada por um ou poucos genes, nos quais a planta oferece defesa contra algumas raças específicas do patógeno (Camargo, 2018; Burbano-Figueroa, 2020). Entretanto, essa forma de resistência pode se tornar ineficaz caso o efeito do gene seja superado pela ação do patógeno, o que pode possibilitar a ocorrência da doença e a necessidade de adoção de novas estratégias de controle.

A presença da RV induz o hospedeiro a desenvolver uma reação de hipersensibilidade, agindo como uma barreira que impede o patógeno de se estabelecer e se multiplicar. Essa forma de resistência apresenta maior relevância em doenças caracterizadas como monocíclica, por atuar reduzindo o inóculo inicial do patógeno, retardando assim o início da epidemia (Burbano-Figueroa, 2020). Em situações de monocultivo, onde apenas uma variedade é cultivada e quando a doença apresenta características policíclica, há uma maior probabilidade da ocorrência da variabilidade do patógeno, tornando sua defesa genética vulnerável e revelando uma menor estabilidade na ação da resistência.

A resistência horizontal, de natureza poligênica com efeito quantitativo, é caracterizada por ser influenciada por múltiplos genes (Nelson, 1978; Burbano-Figueroa, 2020). Essa forma de resistência capacita a planta a coexistir com a doença, dificultando a evolução dos patógenos, uma vez que estes não conseguem superar completamente a barreira imposta pela quantidade de genes de resistência presente na planta (Camargo, 2018). A ação da resistência sobre o patógeno não apenas reduz o tamanho das lesões, mas também prolonga o período de incubação da doença, diminui o número de esporos produzidos por cada lesão. Esse conjunto de alterações nos efeitos provocados pelo patógeno sobre a planta, contribuem para a redução da taxa de desenvolvimento da doença, promovendo uma maior estabilidade da resistência ao longo das gerações.

A RH se apresenta como estável e duradoura ao longo do tempo, pois confere proteção contra um amplo espectro de raças patogênicas. Essa durabilidade é decorrente da ação de vários genes que atuam em conjunto nas reações de defesa da planta, tornando a resistência mais difícil de ser superada.

Para MHM no milho comum, o controle gênico tem sido descrito como efeito poligênico, que pode ser associado à ação gênica dos efeitos aditivos e não aditivos (Lim e Hooker, 1976; Burnette e White, 1985; Kump et al., 2011; Santos et al., 2019; Kurosawa et al., 2020). Entretanto, em estudos de resistência/suscetíveis de linhagens de milho-pipoca em cruzamento dialéticos, os efeitos não aditivos se mostraram predominantes, indicando uma maior influência nas interações gênicas na herança da resistência (Santos et al., 2019; Kurosawa et al., 2020; Saluci et al., 2024).

As pesquisas relacionadas à resistência ao *Bipolaris maydis* em milho-doce ainda são muito escassas em território nacional, dada à baixa representatividade da cultura nos cultivos. O *B. maydis* representa uma ameaça potencial nos plantios de milho, apesar de ainda não ter causado perdas expressivas no Brasil. A presença desse patógeno na área gera preocupação devido aos seus registros históricos de ocorrência em outros países, nos quais provocou prejuízos catastróficos. Os relatos sobre o episódio levantam a necessidade de uma busca constante por genótipos resistentes, uma vez que a variabilidade desse patógeno pode potencialmente superar os níveis de resistência da cultivares existentes e ocasionar impactos mais severos nos cultivos de milho (Matiello et al., 1997).

Para se obter cultivares resistentes, a primeira etapa é identificar fontes de resistência ao patógeno nas linhagens endogâmicas (Oliboni et al., 2012). Em uma

segunda etapa, ocorreria a transferência de alelos favoráveis dos genitores para os seus descendentes, realizada pelos métodos de cruzamentos contidos no melhoramento genético (Michereff, 2001).

Nos programas de melhoramento, uma das formas para a seleção de materiais resistentes é a quantificação da doença nas plantas. Essa quantificação é realizada por meio de escalas diagramáticas, consideradas como um método eficiente para avaliar o grau de intensidade das doenças nas folhas (Camargo, 2018). As notas sugeridas nas escalas representam percentuais crescentes de dano das doenças sobre a área foliar da planta.

A utilização de avaliações ao longo do tempo é fundamental para acompanhar o progresso da doença. Dependendo dos valores atribuídos, é possível determinar a resistência e a suscetibilidade da planta ao patógeno.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Identificar fontes de resistência genética ao *Bipolaris maydis* em um conjunto de linhagens endogâmicas de milho superdoce.

3.2. Objetivos específicos

- Estimar os níveis de severidade do fungo fitopatogênico *Bipolaris maydis* em genótipos de milho superdoce, avaliados sob condições de infecção natural a campo e de inoculação artificial em casa de vegetação;
- Caracterizar os genótipos de milho superdoce quanto ao nível de resistência.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material vegetal

O material vegetal é composto por 26 linhagens (S_6) de milho superdoce (*sh2*) que se encontram armazenadas na coleção de Germoplasma de milho da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro.

As linhagens foram obtidas a partir do híbrido 'Tropical Plus', uma cultivar de híbrido simples superdoce desenvolvida pela empresa multinacional Syngenta Seeds em 2005. Esse híbrido se manteve cultivado e comercializado em larga escala pelo mercado por um período de 10 anos.

No processo de geração dessas linhagens, plantas individuais do híbrido foram submetidas a autofecundações consecutivas durante sucessivas safras de inverno, até atingirem a geração S_6 de autofecundação. Nesta geração, é esperado que aproximadamente 98,44% dos loci estejam em homozigose, o que confere a essas plantas uma maior uniformidade genética e estabilidade fenotípica, que são consideradas características essenciais para que sejam classificadas como linhagens puras.

4.2. Seleção em condições de infecção natural

Para avaliar o desempenho das linhagens de milho superdoce em relação à resistência, foi conduzido um experimento a campo, no qual as linhagens foram semeadas em duas épocas distintas de cultivo: safra 2023 (safra I), que ocorreu de abril a julho, e safra 2023/2024 (safra II), de setembro a dezembro. O local escolhido para a realização do experimento foi a área experimental do Colégio Agrícola Antônio Sarlo, situado no município de Campos dos Goytacazes, na região Norte do estado do Rio de Janeiro, sob as coordenadas geográficas 21° 42' 48" S e 41° 20' 38" O, a uma altitude de 14 metros.

O clima, segundo a classificação de Köppen, é descrito para região como tropical úmido (Aw), com verões chuvosos e invernos secos. De acordo com os dados da normal climatológica para o período que foram implementados os ensaios, as épocas de cultivos oferecem condições ambientais favoráveis para o desenvolvimento do fungo.

Para safra I, observou-se uma variação de temperatura diárias entre 15°C e 34°C, com uma umidade relativa do ar média de 89,2% e precipitação de 176,4 mm. No caso da safra II, as temperaturas médias diárias registradas variaram entre 17,3°C e 40,6°C, com uma umidade relativa do ar média de 86% e precipitação de 115,8 mm (Figura 1). Os dados mensais utilizados para o cálculo das médias são oriundos da estação automática localizada em Campos dos Goytacazes-RJ, situado na área experimental destinada à pesquisa. Todos os dados mensais estão disponíveis no site do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET, 2024).

Para ambas as épocas de cultivos, o delineamento experimental adotado foi em blocos completos ao acaso, com duas repetições. As unidades experimentais foram constituídas por 58 plantas (duas plantas por cova) dispostas em três fileiras simples de 2,80 m, com espaçamento de 1,00 m nas entrelinhas e 0,40 m entre plantas, o que equivale a uma densidade de 50.000 plantas por hectare.

Como bordadura do experimento, foram utilizadas duas fileiras de um híbrido de milho convencional. O preparo da área de plantio foi conduzido mecanicamente, empregando grade aradora e grade niveladora, visando criar uma superfície uniforme que facilitasse o processo de sulcagem. As recomendações de adubação, tanto na semeadura quanto na cobertura, foram realizadas conforme as exigências da cultura e seguindo um protocolo previamente estabelecido pelo laboratório.

As sementes foram semeadas manualmente, com quatro sementes por cova. Quando as plantas atingiram o estágio V2, foi realizado o desbaste, deixando 2 plantas por cova. Em ambos os períodos de cultivo, o controle de plantas daninhas antes da semeadura foi efetuado com o herbicida de pré-emergente que contém dois ingredientes ativos S-Metolaclo e Atrazina (Primestra Gold), enquanto durante o experimento, foi implementada a prática de capina manual conforme necessário. A irrigação foi realizada por meio do sistema de aspersão, sendo instalado um aspersor a cada 10 metros, totalizando seis aspersores por área. O fornecimento de água foi mantido em dias alternados, sendo ajustada ao longo do cultivo com base nas previsões meteorológicas.

O controle de pragas, tais como lagarta-do-cartucho (*Spodoptera frugiperda* Smith, 1797) e lagarta-da-espiga (*Helicoverpa zea* Boddie, 1850), foi realizado mediante o uso de inseticidas, intercalados entre Clorfenapir (Pirate), Lambda-cialotrina + Clorantraniliprole (Ampligo), Metomil (Lannate) e Tiametoxam + Lambda-Cialotrina (Engeo pleno), aplicados com o auxílio de um pulverizador costal. Nenhum fungicida foi utilizado durante todo o ciclo da cultura.

O início das avaliações dos genótipos quanto a resistência/suscetibilidade ao *B. maydis* procedeu quando 50% das linhagens apresentaram o florescimento masculino. Foram realizadas quatro avaliações, cada uma separada por um intervalo de sete dias.

A incidência média e a severidade média foram estimadas em quatro plantas selecionadas da fileira central de cada unidade experimental. Com o objetivo de garantir a representatividade e minimizar a interferência das parcelas vizinhas, as plantas foram escolhidas de forma arbitrária, com a exclusão das plantas localizadas nas extremidades. Essa abordagem visou assegurar uma amostragem equitativa e reduzir potenciais influências externas.

A incidência de *B. maydis* (IBP) foi avaliada com base na contabilização de folhas que apresentam sintomas em relação ao número total de folhas presente na planta, onde foram atribuídas notas em uma escala que varia de 0% a 100%.

A severidade de *B. maydis* (SBF), foi avaliada na folha anexa à primeira espiga de cada planta, considerando a porcentagem de tecido foliar doente em relação à área foliar total. As notas foram estimadas visualmente com o auxílio da escala diagramática proposta por James (1971), utilizando os intervalos de severidade expressos na escala de 0%; 1%; 5%; 25% e 50% de área foliar lesionada (Figura 2).

A partir dos dados obtidos nas avaliações, foi calculada a variável área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) por meio da equação proposta por Campbell e Madden (1990).

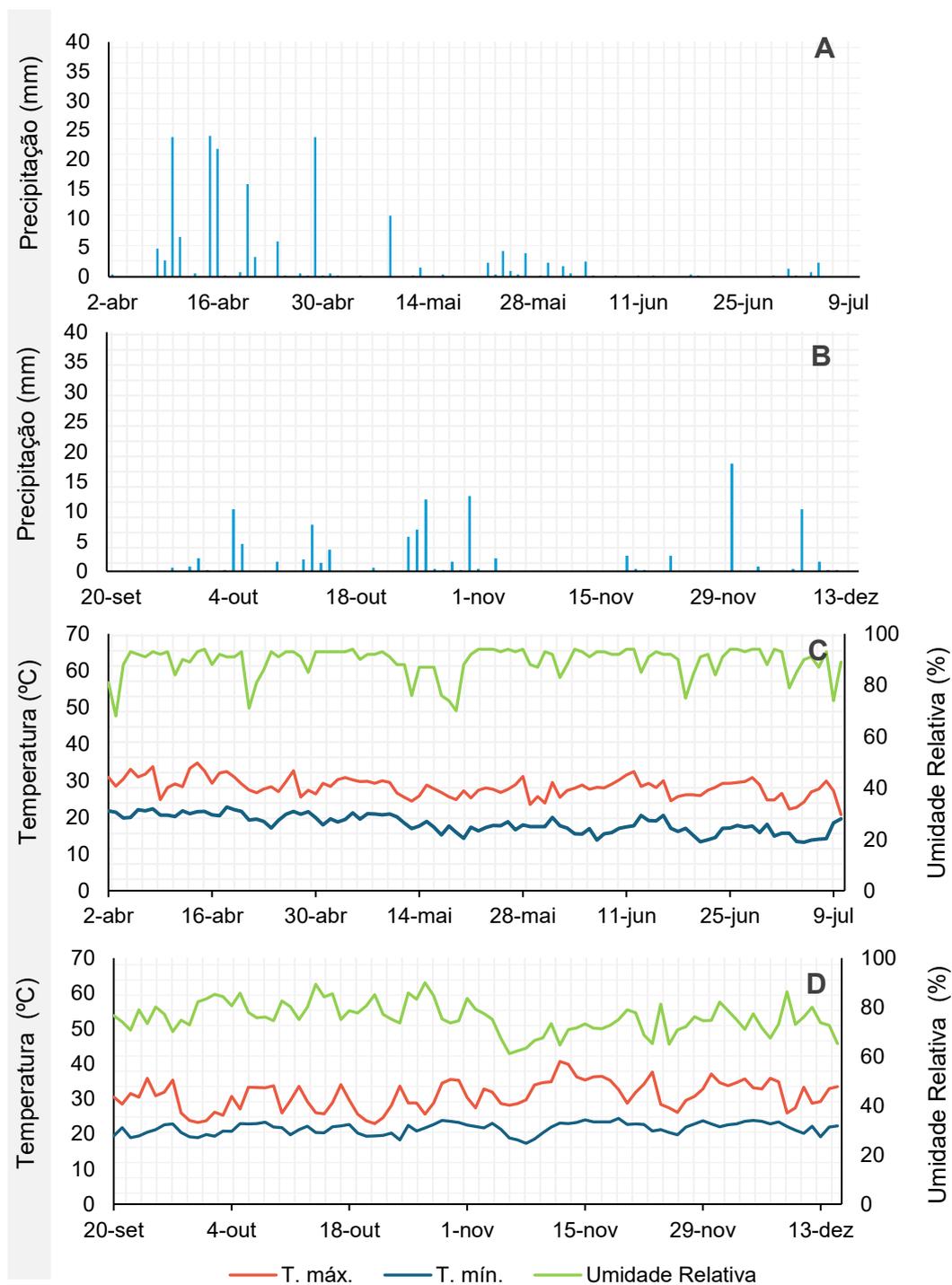


Figura 1. Temperatura máxima e mínima, umidade relativa diárias e precipitação registradas durante o período do experimento em Campos dos Goytacazes, RJ. (A) Precipitação diária ensaio de inverno, (B) Precipitação diária ensaio de verão, (C) Temperatura e Umidade Relativa ensaio de inverno e (D) Temperatura e Umidade Relativa ensaio de verão.



Figura 2. Representação diagramática para avaliação de severidade de helmintosporiose maidis em folhas de milho, proposta por James (1971). Fonte: James, 1971.

4.3. Seleção com inoculação em casa de vegetação

Foram submetidas à inoculação as 26 linhagens de milho superdoce (S6), que passaram pela avaliação de campo juntamente com 4 testemunhas. O experimento foi conduzido em casa de vegetação na Unidade de Apoio à Pesquisa (UAP), situada na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, localizada em Campos dos Goytacazes, RJ. Este experimento ocorreu durante os meses de junho a agosto de 2024.

O delineamento experimental adotado consistiu em blocos casualizados com quatro repetições. Como testemunhas, foram utilizadas linhagens de milho-pipoca, sendo L55 e L80 caracterizadas como resistentes e L63 e L353 como suscetíveis.

As unidades experimentais foram constituídas por duas plantas cultivadas em vasos plásticos com capacidade de 5 litros, preenchidos com substrato composto por uma mistura de solo e areia. A adubação de sementeira foi realizada aplicando 5 g do formulado N-P-K (04-14-08) em cada vaso. Posteriormente, foram semeadas quatro sementes por vaso a 2 cm de profundidade, e após a germinação, quando duas folhas estavam completamente emergidas com colares visíveis (estágio V2), foi realizado o desbaste, mantendo-se duas plantas por vaso e eliminando as menos vigorosas.

A irrigação foi conduzida mediante um sistema de gotejamento, e o controle de plantas invasoras foi realizado manualmente. O controle de pragas foi efetuado com a aplicação do inseticida Tiametoxam + Lambda-Cialotrina (Engeo pleno). A coleta de dados de temperatura máxima e mínima diária e umidade relativa do ar foi realizada diariamente via termo-higrômetro.

Para proceder à inoculação, o inóculo utilizado foi proveniente do isolado "CF/UENF 492" do fungo *B. maydis*, armazenado na clínica fitossanitária da UENF, previamente repicado em placas de Petri contendo meio de cultura de malte. Estas placas foram mantidas durante 20 dias em estufa regulada a 25°C no escuro.

A suspensão de conídios foi obtida pela adição de 30 ml de água destilada, seguida de raspagem superficial das placas e posterior filtração para remoção de fragmentos miceliais. A concentração da suspensão foi determinada por meio de um hemacitômetro e ajustada para 1×10^4 conídios/ml, com 76% dos conídios viáveis após 12h.

A inoculação do patógeno ocorreu 33 dias após a semeadura, quando as plantas se encontravam no estágio fenológico de cinco a seis folhas expandidas (V5 e V6). O método de inoculação artificial foi o de aspersão, utilizando um borrifador para pulverizar as folhas, tanto na face abaxial quanto na adaxial, com 10 ml de uma suspensão de conídios até o ponto de escorrimento na haste. Após 12 horas da inoculação, a temperatura interna na casa de vegetação variou entre 16°C e 27,5°C, enquanto a umidade relativa do ar variou entre 60% e 99%.

A avaliação das plantas teve início sete dias após a inoculação, com três avaliações realizadas com intervalo de 5 dias. A severidade dos sintomas foi visualmente avaliada na sexta folha expandida, utilizando a escala diagramática de notas de severidade proposta por James (1971). Os dados obtidos foram utilizados para o cálculo da variável AACPD.

4.4. Análises estatísticas

Em ambos os experimentos a campo, para cada caráter avaliado (incidência e severidade), os dados AACPD para cada ambiente (safras I e safra II) foram submetidos aos testes de normalidade de Shapiro-Wilk e ao teste de homogeneidade

de variâncias de O'neil e Mathews, em nível de significância de 5%. Confirmada a adequação dos pressupostos, foi realizada a análise de variância individual dos ambientes, pelo teste F, em nível de significância de 5%, de acordo com o modelo:

$$Y_{ij} = \mu + B_j + G_i + \varepsilon_{ij}$$

Em que:

Y_{ij} é o valor observado na parcela que recebeu o efeito do i-ésimo genótipo e da j-ésima repetição;

μ é a constante geral;

B_j é o efeito do j-ésimo bloco;

G_i é o efeito do i-ésimo genótipo;

ε_{ij} é o erro aleatório associado à observação Y_{ij} , com NID (0, σ^2).

A relação entre as variâncias residuais dos ambientes foi testada pelo teste Hartley, em nível de significância de 5%. Havendo homogeneidade residual entre os ambientes, foi aplicada a análise de variância conjunta a fim de investigar as significâncias dos efeitos de Genótipo (G), Ambiente (A) e a interação G x A, conforme o modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + B/A_{k(j)} + G_i + A_j + GA_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Onde:

Y_{ijk} é o valor observado na parcela correspondente ao i-ésimo genótipo alocada no j-ésimo ambiente (safra) no k-ésimo bloco;

μ é a constante geral;

$B/A_{k(j)}$ é o efeito do k-ésimo bloco no j-ésimo ambiente;

G_i é o efeito do i-ésimo genótipo;

A_j é o efeito do j-ésimo ambiente;

GA_{ij} é o efeito da interação entre o i-ésimo genótipo com o j-ésimo ambiente;

ε_{ijk} é o erro aleatório associado à observação Y_{ijk} , com NID (0, σ^2).

Identificada a existência de diferenças significativas, as médias dos genótipos foram agrupadas pelo teste de agrupamento de Scott-Knott, em nível de 5% de significância.

Para o experimento conduzido em ambiente controlado (casa de vegetação), os procedimentos de análises estatísticas seguiram os mesmos critérios adotados nos demais ambientes avaliados. A seleção dos genótipos que mantiveram o desempenho consiste na resistência à doença em todos os três ambientes (verão, inverno e casa de vegetação), foi realizada com base na comparação dos valores médios da AACPD. Todas as análises estatísticas foram realizadas por meio do software R.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Avaliação de campo em condições de infecção natural

5.1.1. Dispersão da doença na área

A ocorrência da Mancha de Helminthosporiose maidis (MHM) neste experimento resultou de infecção natural. A dispersão espacial da doença na área experimental foi um fator determinante para a seleção de genótipos resistentes, assegurando a exposição adequada de todos os genótipos ao patógeno.

Os mapas de incidência possibilitam uma análise visual da dispersão da doença sobre a área, revelando a presença do patógeno em todas as parcelas avaliadas (Figura 3). A análise para incidência foi realizada considerando uma escala de 0 a 100%, na qual a incidência se manteve superior a 93% em todos os ensaios, justificando a predominância de cor vermelha nos mapas, que indica uma alta incidência do patógeno e, conseqüentemente, permite supor um aumento na pressão do inóculo na área experimental ao longo do experimento.

Esse padrão de dispersão, com elevada incidência, demonstra que o ambiente experimental proporcionou condições adequadas para a seleção dos genótipos por meio do método de infecção natural.

Em situações de baixa incidência da doença, a expressão das características de resistência poderia ser comprometida, interferindo no processo de seleção. Nessas condições, os genótipos suscetíveis poderiam ser erroneamente classificados como resistentes, uma vez que a pressão inadequada do patógeno dificultaria a distinção entre genótipos resistentes e suscetíveis. Para que essa seleção seja conduzida de forma eficiente, é essencial que os genótipos sejam expostos a uma pressão de inóculo adequada, ou seja, uma quantidade suficiente de estruturas infecciosas do patógeno em condições ambientais propícias ao desenvolvimento da doença.

A distribuição da intensidade da doença em cada ambiente para cada parcela avaliada permite um comparativo entre severidade e incidência. Apesar da alta incidência, representada por grandes áreas vermelhas no mapa de incidência, alguns genótipos apresentaram baixa severidade, sendo classificados com as áreas mais

claras no mapa de severidade (Figura 4). Isso indica que, mesmo com a ampla presença do patógeno, alguns genótipos demonstraram resistência de campo ao demonstrar uma menor expressão dos sintomas da doença. O mapeamento visual destaca a diferença na resposta dos genótipos à infecção nos dois ambientes experimentais, além de permitir a visualização da variação espacial na incidência de doenças sob métodos de infecção natural.

Este método de observação se torna uma ferramenta de apoio, especialmente ao considerar que uma infecção natural é imprevisível e pode comprometer uma seleção eficiente de genótipos resistentes, principalmente quando a pressão da doença for insuficiente para diferenciar os genótipos.

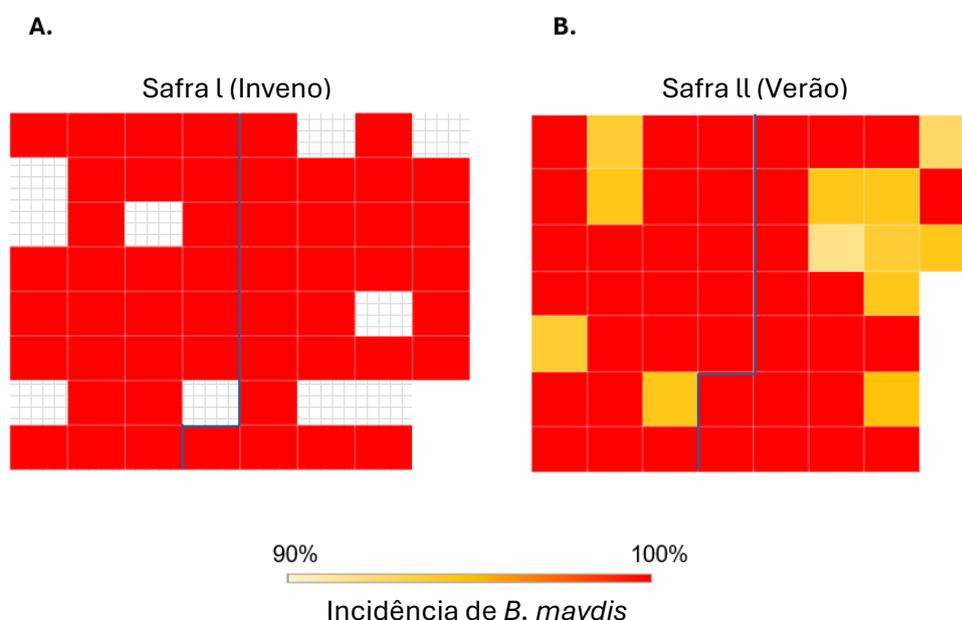


Figura 3. Mapas de incidência de ocorrência da mancha de Helminthosporiose maidis ocasionada pelo fungo *Bipolaris maydis* em cada ensaio de competição das safras de inverno 2023 e verão de 2023/24 em Campos dos Goytacazes, RJ. As parcelas são representadas por retângulos dentro de cada ensaio; linha em azul representa o limite entre os blocos; retângulos com linhas quadriculadas, representam parcelas perdidas.

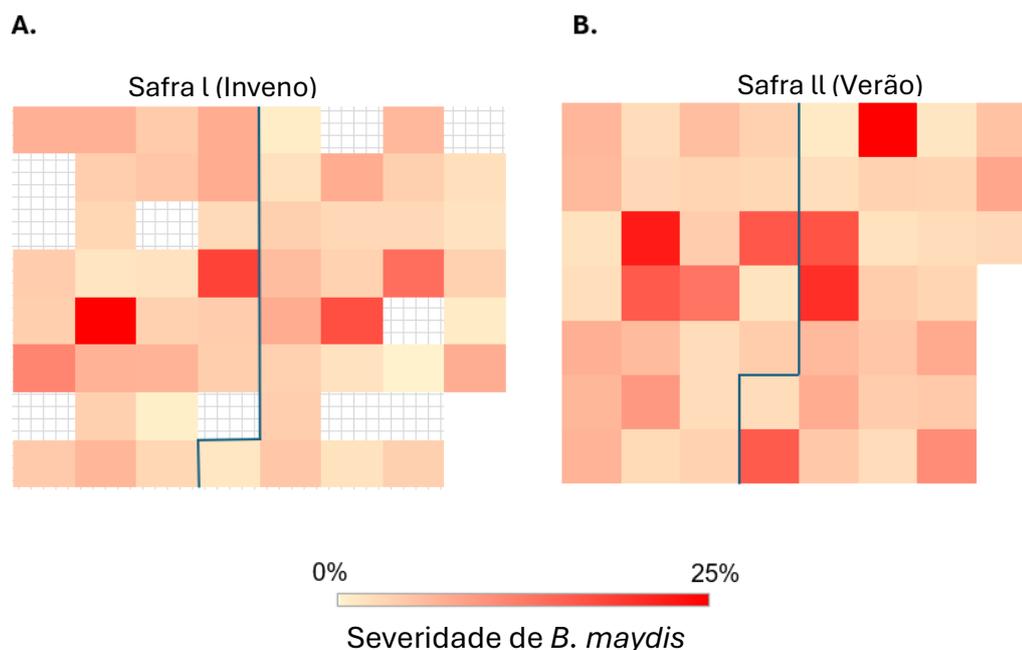


Figura 4. Mapas de severidade de ocorrência da mancha de Helminthosporiose maidis ocasionada pelo fungo *Bipolaris maydis* em cada ensaio de competição das safras de inverno 2023 e verão de 2023/24 em Campos dos Goytacazes, RJ. As parcelas são representadas por retângulos dentro de cada ensaio; linha em azul representa o limite entre os blocos; retângulos com linhas quadriculadas, representam parcelas perdidas.

É importante destacar que, embora a ferramenta possibilite uma visualização espacial da doença, o método de infecção natural não substitui a eficácia do método de infecção artificial, que permite um maior controle sobre a quantidade de inóculo, garantindo condições de alta pressão da doença para avaliar o desempenho dos genótipos (Butoto et al., 2021). Além de assegurar que todos os genótipos sejam igualmente expostos ao patógeno, o que resulta em dados mais consistentes.

Embora o método de infecção natural não assegure a presença do patógeno na área, ele tem demonstrado eficiência na obtenção de sintomas em locais com histórico da doença, tornando-se uma ferramenta prática e representativa para avaliar a resposta das plantas em condições reais de campo.

Na região onde este experimento foi conduzido, pesquisas realizadas por Saluci (2024), bem como os trabalhos de Kurosawa et al. (2018), Amaral et al. (2019) e Santos et al. (2020), avaliaram a incidência e a severidade da mancha foliar causada

pelo fungo *Bipolaris maydis* em plantas de milho-pipoca, utilizando o método de infecção natural. Esses estudos confirmaram a ocorrência espontânea da doença na área, validando a escolha dessa abordagem. Além disso, o campo experimental também recebe, ao longo do ano, a manutenção do Banco de Germoplasma dos Programas de Melhoramento de milho comum e especiais da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Essa atividade contínua reforça a presença constante de inóculo no campo, o que é particularmente benéfico para estudos de resistência a patógenos, uma vez que facilita a identificação de genótipos superiores em condições de infecção natural, contribuindo para a validação de materiais genéticos e para a seleção de cultivares resistentes à doença.

A presença contínua do patógeno na área experimental também pode estar atribuída à ausência de práticas de manejo, como o controle químico e a rotação de culturas, que desempenham um papel fundamental na redução da população do inóculo. A falta dessas medidas contribui para a manutenção e sobrevivência do patógeno no ambiente, proporcionando condições favoráveis para a ocorrência de novas infecções, que culminam na maior incidência e severidade das doenças foliares (EMBRAPA, 2021).

Vale integrar que a avaliação de genótipos resistentes a doenças por meio da infecção natural é fundamental em programas de melhoramento genético, pois permite observar a resposta das plantas à pressão natural da doença em condições reais de cultivo, tornando os resultados mais representativos e aplicáveis às condições de produção agrícola.

5.1.2. Análise individual e conjunta

Ao analisar individualmente os dois ambientes experimentais (Tabela 3), foi observado na análise de variância para o ensaio conduzido no inverno, diferença significativa pelo teste F ($P < 0,05$) entre os genótipos testados para a variável AACPD, calculada com base na severidade da infecção por *Bipolaris maydis*. Este resultado indica uma variabilidade entre os genótipos avaliados, denotando que houve tratamentos que influenciaram de forma distinta a progressão da severidade da doença.

Tabela 3. Análise de variância individual para AACPD de *Bipolaris maydis* em ensaios entre genótipos de milho superdoce, nas safras de inverno (2023) e verão (2023/24). Campos dos Goytacazes, RJ.

FV	GL	QM	
		<u>Inverno 2023</u>	<u>Verão 2023/24</u>
Genótipos	25	11154.4*	5578.6*
Blocos	1	11483.3*	537.1 ^{ns}
Resíduo	25	1301.6	238.8
C.V. (%)	-	35,59	25.73

F.V.: fonte de variação; G.L.: graus de liberdade; Q.M.: quadrado médio, e; C.V.: coeficiente de variação.

*: Significativo ao nível de 5% ($p < 0,05$); ^{ns}: Não significativo ($p < 0,05$).

O efeito significativo da interação entre os genótipos e a severidade foi verificado pelo teste de agrupamento de médias de Scott-Knott, que comparou as médias de AACPD, o que resultou em três grupos distintos. Os genótipos agrupados no grupo “a”, apresentam as maiores estimativas da AACPD e, portanto, são mais suscetíveis ao *Bipolaris maydis*, e os genótipos do grupo “c”, apresentaram menores AACPD, foram os mais resistentes, sendo eles considerados possíveis fontes de resistência (Figura 5).

O teste revelou um maior número de tratamentos em um mesmo nível de resistência. Os tratamentos L199, L184, L202, L189, L181, L203, L176, L179, L191, L193, L192, L201, L208, L186, L183, L198, L190, L207, L185, L197, L180, L187, L205, L200, apresentaram intensidade de severidade inferior, com médias variando de 46.281,25 a 134.000,00, o que demonstra uma maior resistência à infecção. Em contrapartida, o tratamento L188, com média de 378.18750,00, destacou-se como o mais suscetível, apresentando uma severidade elevada em relação aos demais tratamentos avaliados.

Na análise de variância individual, para o ensaio conduzido no verão, também foi observado diferença significativa ($P < 0,05$), indicando uma disparidade entre as médias dos genótipos. O teste de Scott-Knott apresentou maior variabilidade em

relação ao ensaio conduzido no inverno, onde os genótipos foram divididos em quatro grupos distintos (Figura 5).

O genótipo L188 apresentou maior suscetibilidade nesse ensaio, o que lhe confere uma maior média (226.437,50) de severidade. Os genótipos L205, L200, L198, L197, L201, L192, L207, L186, L187, L181, L180 foram os que apresentaram menores médias, que variaram entre 12.656,00 e 32.056,00, sendo considerados com melhor desempenho quanto ao progresso da doença, o que indica a presença de possíveis genes de resistência.

O coeficiente de variação (C.V.) registrado nos ensaios conduzidos no inverno e no verão foi de 25,73% e 35,59%, respectivamente, indicando uma considerável variabilidade relativa dos dados. Esses coeficientes são considerados aceitáveis em experimentos de avaliação da severidade de doenças em milho (Scapim et al., 1995), principalmente devido à variação decorrente da interação entre planta, patógeno e ambiente. Essa variação pode ser atribuída à influência exercida pelas condições ambientais, como temperatura, umidade e vento, sobre a variável avaliada, que interfere diretamente no período de incubação e na taxa de infecção do patógeno, somado ao uso de infecção natural.

Em avaliações de severidade, é comum a presença de notas com valores nulos, seguidas por um aumento exponencial das notas em avaliações subsequentes. Essa característica é normalmente observada em estudos de campo por infecção natural. Os valores nulos ou baixos na presença de outros valores mais elevados, podem contribuir para uma menor média e uma maior dispersão dos dados em relação à média, o que resulta em um elevado valor de C.V.. Valores semelhantes de coeficiente de variação encontrados nesse experimento são relatados na literatura. Juliatti et al. (2005) apresentaram valores de C.V. 33% para avaliação de doença considerando a variável AACPD.

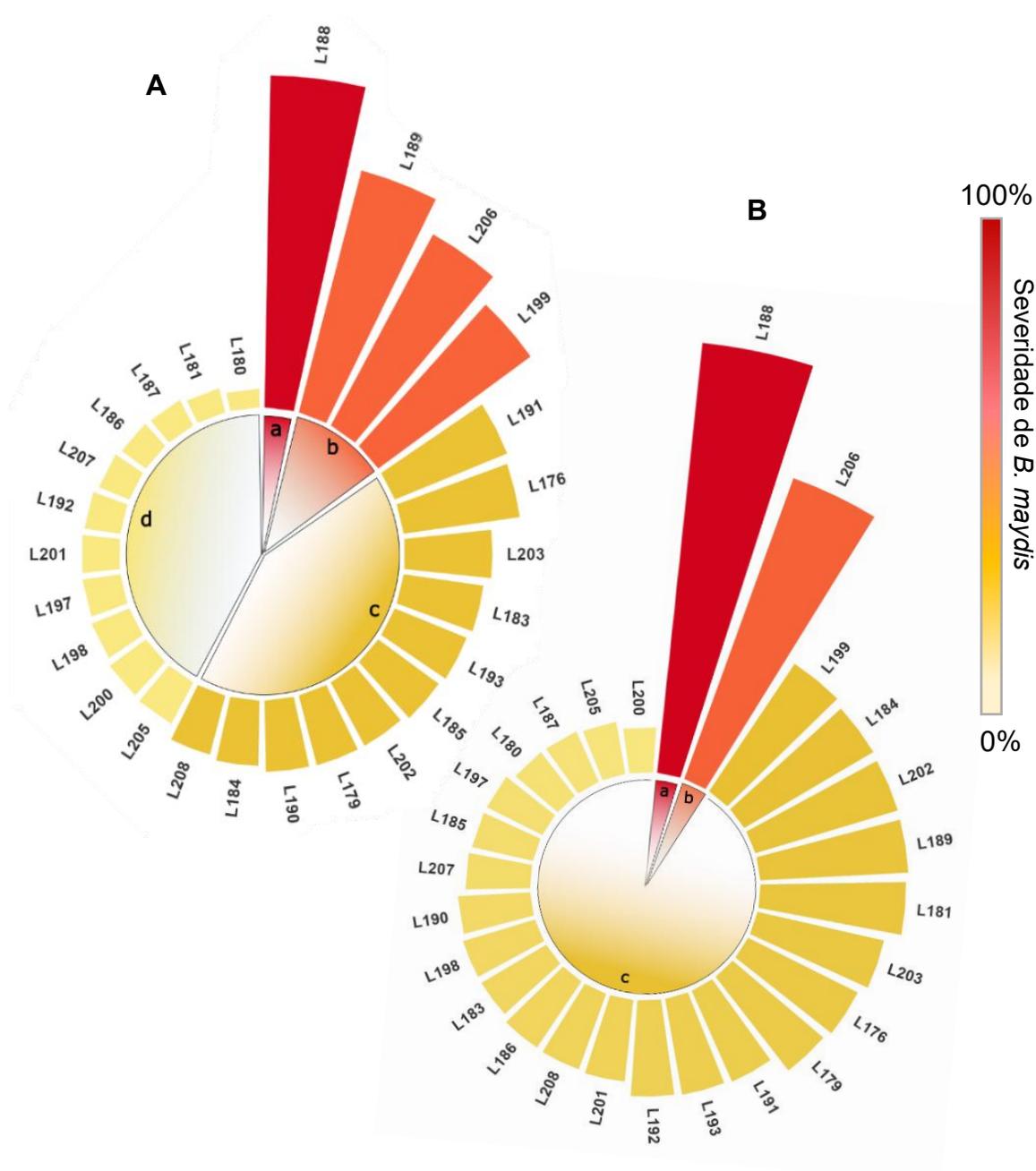


Figura 5. Agrupamento de médias de AACPD entre genótipos de milho superdoce S₆ de acordo com a severidade de *Bipolaris maydis*, no ensaio de inverno (A) e ensaio de verão (B). Letras no centro indicam os limites para determinação dos grupos de médias de acordo com o teste de Scott Knott a 5% de probabilidade.

A análise de variância conjunta para severidade revelou diferença significativa ($P < 0,05$) entre as fontes de variação (Tabela 4). A significância indicou a existência de variabilidade genética entre os genótipos, os quais apresentam diferentes graus de resistência a *Bipolaris maydis* ainda que considerando as duas safras. A interação genótipo e ambiente, corrobora com os resultados observados nas análises dos testes de médias individuais, confirmando que houve genótipos que responderam de forma distinta nos ensaios conduzidos nas diferentes épocas. Essa interação significativa enfatiza a importância de indicar genótipos adaptados às condições específicas de cada ambiente, e selecionar aqueles que demonstraram estabilidade no desempenho sob cada condição ambiental específica, o que contribui na mitigação dos efeitos adversos das variações ambientais.

A significância da interação genótipo e ambiente acrescenta um grau de complexidade à seleção de genótipos com boa adaptação a diferentes condições, ela também demonstra os genótipos que apresentaram instabilidade no desempenho ao longo de diferentes safras, possibilitando associar aqueles com menor severidade da doença a possíveis fontes de resistência.

Tabela 4. Análise de variância conjunta para ensaios de competição entre linhagens S₆ de milho superdoce, considerando o modelo de blocos ao acaso, nas safras de inverno (2023) e verão (2023/24), em Campos dos Goytacazes, RJ.

		QM
FV	GL	
Genótipos (G)	25	14930.4657*
Safra (S)	1	44390.5314*
G x S	25	1802.6202*
Bloco/S	2	6010.2310
Resíduo	50	770.2014

F.V.: fonte de variação; G.L.: graus de liberdade; Q.M.: quadrado médio.

*: Significativo ao nível de 5% ($p < 0,05$); ns: Não significativo ($p > 0,05$).

Os genótipos classificados no grupo de menor severidade que mantiveram o desempenho consistente tanto no ensaio no verão quanto no inverno, evidencia a

estabilidade de sua resposta às condições variadas. Esse comportamento consistente dos genótipos justifica o uso da análise conjunta como ferramenta para a seleção de materiais genéticos adaptados a diferentes ambientes.

A seleção dos genótipos de milho superdoce foi realizada considerando as duas safras (verão e inverno) com base na variável AACPD para severidade. Os desdobramentos da análise conjunta permitiram identificar genótipos que apresentaram estabilidade na resistência em diferentes ambientes, ou seja, que mantiveram baixos níveis de severidade da doença em ambas as safras, identificando aqueles que apresentaram diferença significativa em seu desempenho.

De acordo com as análises conjuntas, os genótipos que apresentaram as menores médias de AACPD, expressando, assim, maiores níveis de resistência a *Bipolaris maydis* em ambos os ambientes, foram L181, L193, L183, L208, L190, L192, L185, L201, L198, L186, L197, L207, L205, L200, L187 e L180, o que os tornam materiais de interesse para melhoramento visando resistência a doenças. O genótipo L188 foi considerado o mais suscetível, alcançando, no primeiro ensaio, o maior valor de AACPD (378.187) em comparação com o segundo ensaio (226.437).

O desempenho dos genótipos nos dois ambientes pode ser visualizado no gráfico de dispersão (Figura 6), que mostra as respostas dos genótipos de milho superdoce com relação à área AACPD, nas safras de inverno e verão. Esse gráfico possibilita identificar quais tratamentos possuem uma resposta consistente à resistência a doenças em diferentes ambientes, além de facilitar a seleção dos genótipos adaptados para condições específicas ou com ampla resistência.

Na análise, é possível observar que 15 genótipos estão concentrados no quadrante inferior esquerdo (Figura 6). Esse grupo apresentou valores de AACPD inferiores às médias gerais em ambos os eixos, indicando menor progresso da doença. Esses genótipos demonstraram menor severidade em ambas as safras, o que implica em uma maior resistência à infecção. Com base nos critérios de seleção adotados nessa pesquisa, 57,6% dos genótipos apresentaram potencial para uso em programas de melhoramento, visando a incorporação de resistência à doença em ambientes com variações climáticas sazonais.

No entanto, alguns genótipos se destacaram por apresentarem maior ou menor severidade em uma das safras. Como é o caso do genótipo L191, localizados no quadrante superior esquerdo do gráfico, apresenta menor severidade no ensaio conduzido verão, enquanto os genótipos L200, L184, L179, L203 e L181,

posicionados no quadrante inferior direito, apresentaram menor severidade no ensaio conduzido inverno.

Os tratamentos L188, L206, L199 e L189, localizados no quadrante superior direito, apresentaram um valor da AACPD muito elevado, o que confere a eles uma alta suscetibilidade à doença nos ambientes avaliados.

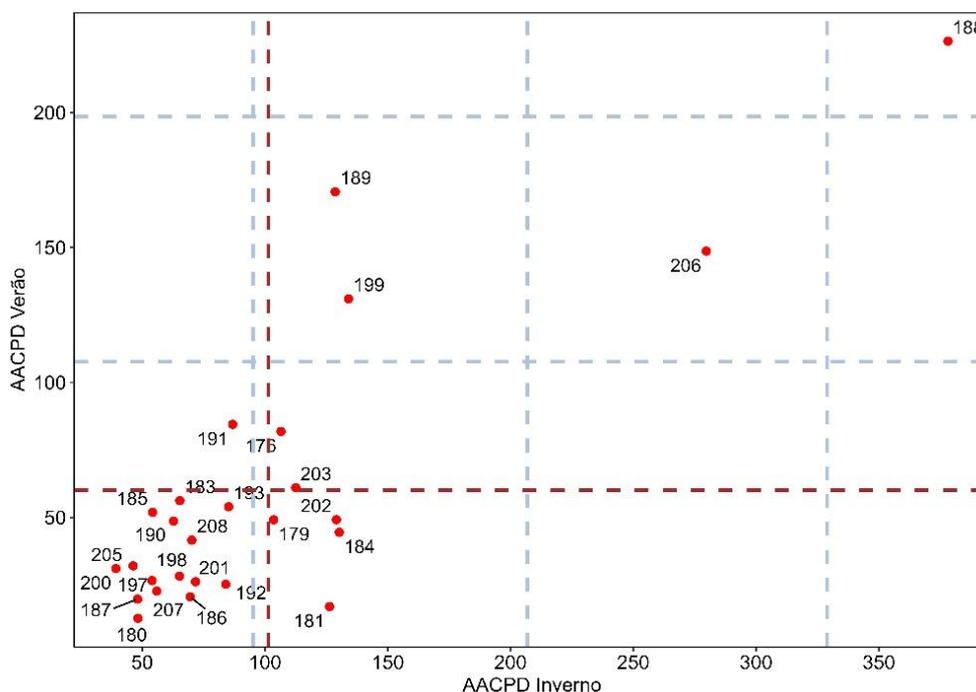


Figura 6. Dispersão média das linhagens de milho superdoce S₆ em função da severidade da doença, medida pela Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) nas safras de inverno (eixo X) e verão (eixo Y). Cada ponto vermelho representa um genótipo específico testado quanto a resistência à doença. Linhas horizontais em azul delimitam os limites dos grupos semelhantes para severidade no verão, e linhas verticais em azul delimitam os limites dos grupos semelhantes para o inverno, formados pelo algoritmo Scott-Knott. A linha vermelha indica a média geral.

Conforme observado, a resistência/suscetibilidade foi determinada com base na variável severidade. A severidade é uma variável amplamente utilizada na quantificação de doenças foliares e é fundamental na seleção de fontes genéticas de resistência, uma vez que fornece uma indicação direta da capacidade da planta em restringir a progressão da infecção após a exposição ao patógeno. Essa métrica é

especialmente importante para doenças de natureza policíclica, devido ao seu impacto na cultura, já que o patógeno coloniza uma grande parte do tecido foliar, reduzindo a área fotossintética e induzindo a senescência precoce da planta (Brito et al., 2010; Silva et al., 2020).

Como o caráter alvo é a resistência, a presença de gene de defesa é geralmente inferida pela redução da gravidade de infecção, sendo essa redução da severidade atribuída à expressão dos genes de resistência presentes nas plantas. Estudos que auxiliam na localização das regiões do genoma responsáveis pela resistência as doenças foliares vêm sendo desenvolvidos. Zwonitzer et al., (2010) mapearam loci de características quantitativas (QTLs) associados à resistência à mancha de helmintosporiose maidis (MHM) em uma população de linhagens endogâmicas de milho comum. Balint-Kurti et al. (2010) mapearam QTLs em linhas suscetíveis e resistentes, associados à resistência à MHM, em diferentes cromossomos, sendo os mais significativos localizados nos cromossomos 1, 2 e 3. Esses estudos também têm como objetivo compreender como a resistência genética das plantas atua como uma barreira natural, interferindo na capacidade dos patógenos se proliferarem e causarem danos.

A severidade foi utilizada para os cálculos da AACPD, e a análise dessa variável facilitou a comparação entre os diferentes genótipos, permitindo identificar plantas com menor severidade e associá-las à presença de genes de resistência que limitam o progresso da doença. No experimento conduzido em condições de campo, esse processo facilitou a seleção de variedades capazes de suportar com eficácia a pressão exercida pelos patógenos.

Os resultados encontrados por Saluci et al. (2024) indicam que a seleção de linhagem de milho-pipoca baseada na severidade é uma estratégia viável em condições de campo, pois as linhagens que exibiram baixa incidência de doença também foram selecionadas quanto à severidade. A prática de selecionar linhagens com base na severidade é também corroborada por Kurosawa et al. (2018), que, a partir das estimativas de severidade, selecionaram genótipos de milho-pipoca com resistência genética a doenças fúngicas causadas por *Exserohilum turcicum* (Pass.) Leonard & Suggs e *Bipolaris maydis* (Nisik. & Miyake) Shoemaker em um grupo 37 genótipos avaliados. De forma semelhante, Santos et al. (2020), observaram fortes correlações genéticas e fenotípicas entre a incidência e a severidade, o que possibilitou simplificar o processo de seleção ao focar exclusivamente na severidade.

As estimativas de área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) calculada com base na severidade foram suficientes para discriminar os genótipos quanto à resistência, revelando uma diferença significativa entre os genótipos avaliados em ambos os ensaios (tabela 2). Um estudo desenvolvido por Nyanapah et al., (2022) sobre mancha foliar no milho, demonstrou que o uso da AACPD foi o método de avaliação de doença mais eficiente em distinguir diferenças na severidade entre genótipos.

No caso de estudos com manifestações dos sintomas pela infecção natural, onde não há o controle para que haja homogeneidade no início da infecção do patógeno, a primeira avaliação da doença já tende a apresentar diferenças entre os genótipos. Nesse sentido, o uso da AACPD em detrimento da média de severidade por si só, representa uma variável menos viesada para comparação entre genótipos.

5.1.3. Comparação entre as safras

Houve uma variação da intensidade da doença entre as épocas do ano (Figura 7). O ensaio conduzido no inverno apresentou níveis de severidade mais elevados em comparação com o ensaio conduzido no verão. Foi observada uma variabilidade considerável na severidade da doença, tanto entre os ambientes quanto entre os genótipos dentro de cada ambiente. Essa diferença entre épocas sugere que o ambiente influenciou a manifestação da severidade da doença, mesmo sob condições de alta incidência. Situação que pode ser justificada, possivelmente, por haver diferença nas condições climáticas entre as safras, que pode ter favorecido o progresso da doença em um dos ensaios, mais do que no outro.

De acordo com Kurosawa et al. (2016), esses resultados eram esperados, uma vez que a intensidade da doença varia nos genótipos avaliados em diferentes épocas de cultivo (inverno e verão) para a região do Norte fluminense.

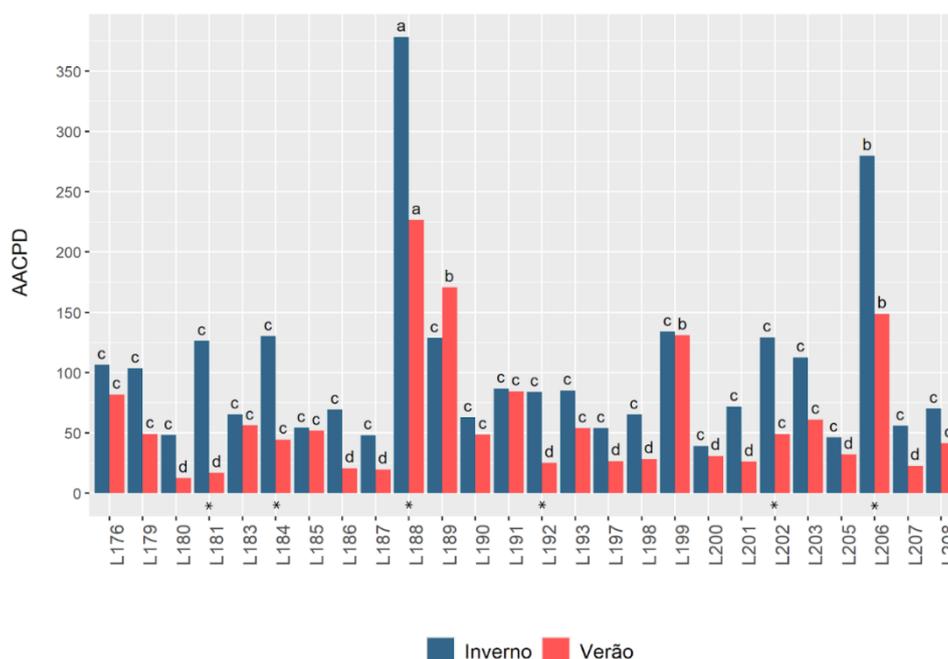


Figura 7. Médias de AACPD de severidade dos genótipos na safra de verão (Barras em vermelho) na safra inverno (Barras em azul), seguidas pela mesma letra, não diferem significativamente a 5% de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott.

*: Diferença entre as safras a 5% de probabilidade, pelo teste F.

Observou-se o aumento da AACPD em detrimento ao ambiente (Figura 7). No ensaio de inverno, as temperaturas ocorridas entre abril e junho de 2023, período em o experimento foi conduzido, caracterizaram o período com temperaturas diárias variando entre 15°C e 34°C, com umidade relativa 89,2% (Figura 1). A precipitação pluvial acumulada para o período do experimento foi de 176,4 mm, correspondente a 52,3% a mais que o verão e, 20% acima da média histórica. Embora houvesse a irrigação na área, os períodos de chuva mais intensos aumentaram o tempo de molhamento foliar, favorecendo o estabelecimento e o período de infecção do fungo. Essas condições de temperatura, elevada umidade e precipitação mais intensas contribuíram para criar um ambiente mais propício para o desenvolvimento do patógeno, possivelmente, resultando em uma influência positiva na taxa de infecção e, conseqüentemente, em maiores níveis de severidade.

Na safra de verão, níveis inferiores de severidade foram registrados, com os valores de AACPD sendo 68,81% menores em comparação com o ensaio de inverno.

As temperaturas registradas entre setembro e dezembro de 2023 foram mais elevadas que as registradas na primeira safra. As temperaturas diárias variaram entre 17,3°C e 40,6°C com umidade relativa variando de 23% a 90%, com média em torno de 86% e precipitação de 115,8 mm (Figura 1). Apesar das condições de umidade terem sido favoráveis para o desenvolvimento da doença, as elevadas temperaturas registradas e os menores períodos de chuvas durante o ensaio não foram menos propícias para a ocorrência da infecção. Por se tratar de uma doença policíclica, essas temperaturas elevadas podem ter interferido no ciclo secundário do fungo e em sua virulência.

A infecção por *B. maydis* é favorecida por temperaturas variando entre 22°C e 30°C, alta umidade relativa e presença de água sobre as folhas de milho, o que permite a germinação de conídios e a penetração de fungos (Martinez et al., 2010). As elevadas temperaturas encontradas no ensaio de verão, podem ter acelerado a evaporação da água na superfície da planta, diminuindo o tempo de molhamento foliar. Esse efeito pode ter dificultado ou até inibido a germinação dos conídios e a penetração do fungo, diminuindo, assim, as suas chances de infecção.

Condições ambientais desfavoráveis, como altas temperaturas e variações de umidade, também influenciam as respostas das plantas. De acordo com Schauffler et al. (2022), certos genótipos, ao enfrentarem estresses abióticos, como elevadas temperaturas por exemplo, podem aumentar a produção de compostos fenólicos e flavonoides, que possuem propriedades antimicrobianas que ajudam a reduzir a germinação e o crescimento de patógenos.

As altas temperaturas interferem significativamente na condutância estomática (Slot et al., 2021). Os estômatos são considerados uma das vias de penetração de muitos patógenos, e a ocorrência de elevadas temperaturas pode provocar variações morfológicas em seus padrões estomáticos, levando a um fechamento desses poros e criando barreiras adicionais à entrada de patógenos (Meddy e Meshram, 2024).

Os maiores índices de severidade que foram encontrados no ensaio conduzido no inverno, corroboram com os resultados apresentados por Saluci et al. (2024), que avaliaram e selecionaram, em condições de campo, linhagens candidatas a fontes de resistência a *B. maydis* em um conjunto de 184 linhagens endogâmicas de milho-pipoca, por meio do método de infecção natural em ensaios conduzidos no inverno e no verão.

Na região de Campos dos Goytacazes, é comum que a intensidade da doença MHM, seja geralmente mais elevada durante no inverno, devido às condições

climáticas favoráveis ao desenvolvimento do patógenos. Kurosawa (2018) conduziu um estudo na mesma região, avaliando as reações de genótipos de milho-pipoca quanto à resistência a doenças, e observou maior intensidade da doença na segunda época de cultivo (maio a setembro). Resultados semelhantes foram registrados em um estudo realizado por Santos (2019), que avaliou oito linhagens de milho-pipoca e 56 híbridos obtidos por cruzamentos dialélicos, incluindo recíprocos, para entender o controle genético da resistência à mancha causada por *B. maydis* em duas safras.

Historicamente, a região de Campos dos Goytacazes apresenta um padrão climático bem definido, com invernos frios e secos e verões quentes e chuvosos. No entanto, os resultados climáticos obtidos em 2023 indicam que esse ano pode ser considerado atípico, pois apresentou inverno com chuvas acima do esperado e umidade relativa alta, somado a menores volumes de chuva no verão.

Essa variação climática pode ter influenciado diretamente a maior ocorrência e intensidade da doença observada no ensaio conduzido no inverno, em comparação com o ensaio realizado no verão, evidenciando como as condições ambientais interferem diretamente no processo de infecção do fugo.

5.2. Avaliação da resistência sob inoculação em casa de vegetação

Os sintomas se tornaram aparentes a partir de 96 horas após a inoculação, onde todos os genótipos apresentaram lesões em diferentes partes das folhas, com diferentes níveis de intensidade, demonstrando alta patogenicidade do isolado. A temperatura média durante o período de incubação do fungo foi de 21,5°C, e a umidade relativa 85,5%. As temperaturas médias durante a período de permanência do experimento variou de 19,1°C a 31,2°C com umidade relativa média de 78,0% a 85,5%, o que pode ter influenciado positivamente na maior taxa de infecção do fungo, resultando nos níveis aparentes de severidade. Essas condições são consideradas favoráveis para o desenvolvimento de *B. maydis* em milho-doce (González et al., 2020).

As diferentes respostas dos 26 genótipos à infecção causada pelos patógenos decorrentes de inoculação artificial, foi comprovada por meio da análise de variância,

que revelou diferença significativa ($P < 0,05$) para AACPD. Estes resultados indicam que os genótipos apresentaram diferentes níveis de reação à infecção do isolado, mostrando que existe genótipos com diferentes padrões de resistência.

Pelo teste de agrupamento de Scott-Knott, foram formados dois grupos distintos com os valores de AACPD (Figura 8). Os 18 genótipos considerados possíveis fontes de resistência foram agrupados no grupo “b”, e apresentaram média para AACPD estatisticamente equivalente à média das testemunhas resistentes L353 (0,862) e L63 (0,737). Em contraste, sete genótipos suscetíveis foram agrupados no grupo “a”, e apresentaram médias da AACPD estatisticamente semelhante à média das testemunhas suscetíveis, L55 (2,668) e L80 (2,168).

As testemunhas L63 e L353 se mostraram resistentes a *B. maydis*, apresentando os menores índices de AACPD, corroborando com os resultados obtidos por Ferreira et al. (2024), nos quais a linhagem L353 demonstrou resistência significativa em um estudo de caracterização do isolado de *B. maydis* em diferentes linhagens de milho-pipoca, e por Saluci et al. (2024), onde os mesmos genótipos foram utilizados como testemunhas resistentes. Por outro lado, as testemunhas L55 e L80 apresentaram alta suscetibilidade ao patógeno nas pesquisas conduzidas por Kurosawa et al. (2018), Saluci et al. (2024) e Ferreira et al. (2024). A consistência desses resultados das testemunhas em diferentes condições e pesquisas independentes reforça a confiabilidade na resistência e na suscetibilidade nos resultados obtidos em casa de vegetação.

A severidade máxima registrada sob condições de inoculação artificial para os 26 genótipos avaliados como possíveis fontes de resistência foi de 5% na terceira avaliação, com uma AACPD máxima de 3,737. Esses valores foram considerados inferiores aos encontrados no campo. Onde, essa diferença pode ser atribuída, principalmente, ao menor tempo de exposição das plantas ao patógeno em casa de vegetação, o que interfere na progressão da doença no espaço e no tempo, ao limitar o número de seus ciclos secundários.

O ciclo da doença refere-se ao processo de infecção, reprodução e propagação do patógeno, e um menor tempo de exposição à doença pode dificultar a conclusão de seus sucessivos ciclos durante o período de desenvolvimento da planta, restringindo, assim, a gravidade da epidemia (Raiva et al., 1994). Além disso, no ensaio de campo, a interferência de outros agentes bióticos nas fases avançadas da epidemia, pode comprometer a correlação entre as lesões e o patógeno-alvo da

pesquisa, ou contribuir para uma mais rápida senescência da planta, implicando na mensuração de níveis mais elevados de severidade.

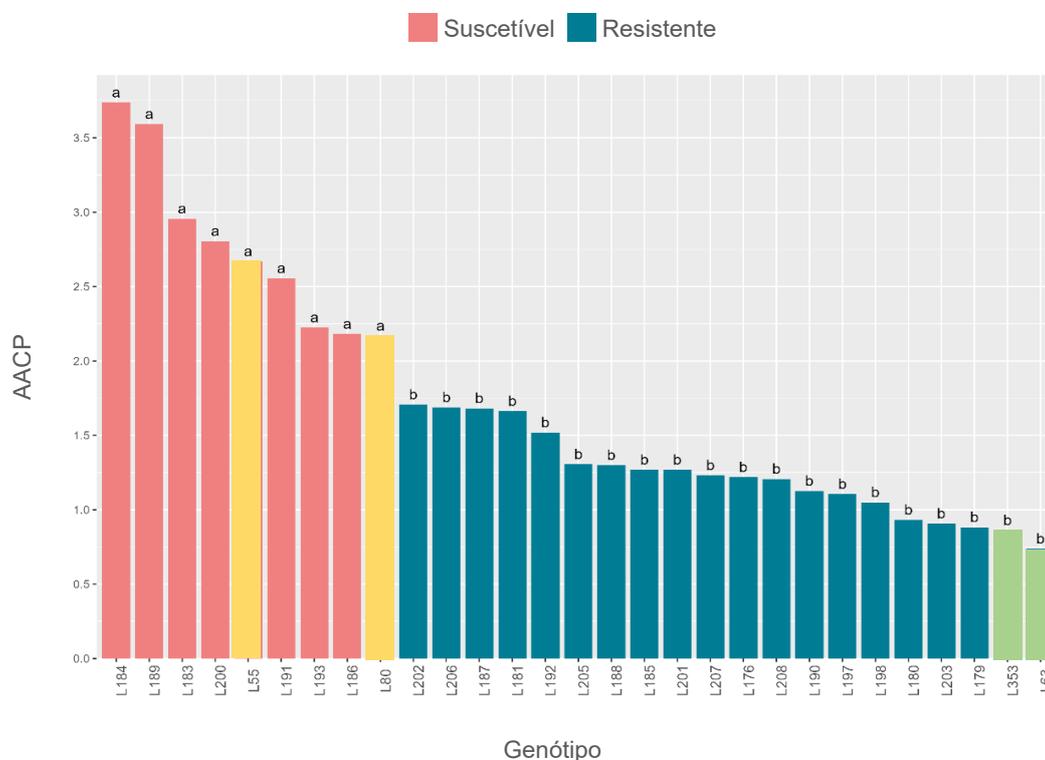


Figura 8. Distribuição dos genótipos de milho superdoce de acordo com as médias de AACPD de severidade. As barras em amarelo representam as testemunhas suscetíveis (L55 e L80), enquanto as barras verdes representam as testemunhas resistentes (L63 e L353). Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, não diferem significativamente, a 5% de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott.

Quando se comparam os resultados do ensaio conduzido via inoculação artificial com os de infecção natural, observou-se que dos genótipos avaliados nos ensaios conduzidos no campo, L207, L205, L201, L198, L197, L192, L187, L181 e L180 se mantiveram resistentes também no ensaio em casa de vegetação. A consistência no desempenho desses genótipos permite considerá-los como fontes seguras de resistência e recomendá-los para uso em futuros cruzamentos. Trabalho similar foi desenvolvido por Saluci et al. (2024) que adotaram o método de inoculação

artificial em casa de vegetação para selecionar fontes de resistência em um conjunto de linhagens de milho-pipoca pré-selecionadas no campo.

Além disso, as linhagens indicadas como fontes de resistência podem ser consideradas confiáveis, pois apresentam um padrão de resistência semelhante ao das testemunhas, que são materiais já caracterizados quanto à resistência e utilizados como referência em outros estudos.

Os genótipos L186 e L200, que haviam apresentado resistência em condições de campo, demonstraram maior suscetibilidade em casa de vegetação. Essa condição pode ter como causa as diferentes condições de cultivo.

Já os genótipos L179 e L203, que apresentaram suscetibilidade no campo, demonstraram resistência em casa de vegetação. É possível que essa variação seja atribuída aos níveis inferiores de infecção observados em casa de vegetação, possivelmente devido ao menor intervalo entre as avaliações, o que pode ter limitado o tempo de exposição dos genótipos ao patógeno. Esse tempo reduzido pode não ter sido suficiente para que a doença progredisse ao mesmo nível que progrediu no campo.

Conforme visto, a confirmação da resistência/suscetibilidade dos genótipos S₆ de milho superdoce avaliados nos ensaios conduzidos no campo foi realizada por meio do experimento em casa de vegetação sob inoculação artificial. De acordo com Butoto et al. (2021), a inoculação artificial é uma das alternativas mais confiáveis quando o objetivo é diferenciar a resistência entre genótipos.

Algumas pesquisas, como a de Mubeen et al. (2017) utilizaram a metodologia de inoculação artificial para identificar/confirmar a resistência. Da mesma forma, Saluci et al. (2024) trabalhando com a helmintosporiose do milho constataram resistência em seu trabalho usando a inoculação.

A identificação de novas fontes de resistência oferece boas perspectivas quanto ao manejo de doença, e a adoção de técnicas que validam o desempenho dos genótipos proporcionam maior garantia de sucesso no processo de seleção.

Com base nos resultados obtidos, a escolha mais prudente é indicar como resistência os materiais que apresentaram resistência de forma consistente nas três condições avaliadas: duas safras em campo e na confirmação em casa de vegetação. Essa abordagem é recomendada quando o objetivo do programa de melhoramento for buscar fontes de resistência contra *B. maydis*.

6. CONCLUSÃO

Os ensaios demonstraram que, dentre o germoplasma de milho superdoce da UENF, há genótipos com potencial de resistência a *Bipolaris maydis*. Os genótipos L205, L198, L197, L201, L192, L207, L187, L181 e L180 apresentaram menores índices de severidade, podendo ser consideradas linhagens com potencial para o desenvolvimento de futuras cultivares milho-doce resistentes ao *Bipolaris maydis* no Programa de Melhoramento Genético da UENF.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ali, F., & Yan, J. (2012). Resistência a doenças no milho e o papel do melhoramento molecular na defesa contra ameaças globais. *Journal of integrative plant biology*, 54 (3), 134-151.
- Ali F, Rahman H, Durrishahwar NF, Munir M, Ullah H. (2011) Genetic analysis of maturity and morphological traits under maydis leaf blight (MLB) epiphytotics in maize (*Zea mays* L.). *J. Agric. Biol.*6:13-1.
- Amaral Júnior, A. T., Poltronieri, T. P. S., Santos, P. H. D., Vivas, M., Gerhardt, I. F. S., Carvalho, B. M. (2019) Reaction of popcorn lines (S7) cultivated in distinct phosphorus levels to *Bipolaris maydis* infection. *Summa Phytopathologica*, 45:18-22.
- Aragão, C. A., Dantas, B. F., Alvez, E., Cataneo, A. C., Cavariani, Nakagawa, J. (2003) Atividade amilolítica e qualidade fisiológica de sementes armazenadas de milho superdoce tratadas com ácido giberélico. *Revista Brasileira de Sementes*, 25:43-48.
- Aragão, C. A. (2002) Avaliação de híbridos simples braquíticos de milho superdoce (*Zea mays* L.) portadores do gene *shrunk-2 (sh2sh2)* utilizando o esquema dialélico parcial. *Unesp, Botucatu*.
- Arnhold, E. (2008) Seleção para resistência a doenças foliares em famílias S1 de milho-pipoca. *Revista Ceres*, 55:89-93.
- Azanza, F., Bar-Zur, A., Juvik, J. A. (1996) Variation in sweet corn kernel characteristics associated with stand establishment and eating quality. *Euphytica*, 87:7-18.
- Aziz, M. S., Nawaz, R., Haider, N., Rehman, Z. U., Aamir, A. H., & Imran, M. (2019) Starch composition, antioxidant potential, and glycemic indices of various

varieties of *Triticum aestivum* L. and *Zea mays* L. available in Pakistan. *Journal of Food Biochemistry*, 43(8):e12943.

Balint-Kurti, P. J., Yang, J., Van Esbroeck, G., Jung, J., & Smith, M. E. (2010) Use of a maize advanced intercross line for mapping of QTL for northern leaf blight resistance and multiple disease resistance. *Crop Science*, 50(2):458-466.

Barbieri, V. H. B., Luz, J. M. Q., Brito, C. H., Duarte, J. M., Gomes, L. S., Santana, D. G. (2008) Produtividade e rendimento industrial de híbridos de milho-doce em função de espaçamento e populações de plantas. *Horticultura Brasileira*, 23:826-830.

Baveja, A., Muthusamy, V., Panda, K. K., Zunjare, R. U., Das, A. K., Chhabra, R., Hossain, F. (2021) Development of multinutrient-rich biofortified sweet corn hybrids through genomics-assisted selection of *shrunk2*, *opaque2*, *IcyE* and *crRB1* genes. *Journal of Applied Genetics*, 62:419-429.

Bhandari, R. R., Aryal, L., Sharma, S., Acharya, M., Pokhrel, A., Apar, G. C., Panthi, S. (2017) Screening of maize genotypes against southern leaf blight (*Bipolaris maydis*) during summer season in Nepal. *World Journal of Agricultural Research*, 5:31-41.

Bordallo, P. D. N., Pereira, M. G., Amaral Júnior, A. T. D., Gabriel, A. P. C. (2005) Diallel analysis of sweet and regular corn genotypes for agronomic characters and total protein content. *Horticultura Brasileira*, 23:123-127.

Brito, A. H. D., Von Pinho, R. G., Souza Filho, A. X. D., Altoé, T. F. (2010) Avaliação da severidade da cercosporiose e rendimento de grãos em híbridos comerciais de milho. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*, 7(1).

Brown, W. L., & Goodman, M. M. (1977). Races of corn. In G. F. Sprague (Ed.), *Corn and Corn Improvement*. American Society of Agronomy, Madison, WI, 33–79.

- Burbano-Figueroa, Ó. (2020) Resistencia de plantas a patógenos: una revisión sobre los conceptos de resistencia vertical y horizontal. *Revista Argentina de Microbiología*, 52:245-255.
- Burnette, D., & White, D. (1985). Herança da resistência à raça *Bipolaris maydis* O. *Fitopatologia*, 75:1195-1200.
- Butoto, E. N., Marino, T. P., Holland, J. B. (2021) Effects of artificial inoculation on trait correlations with resistance to *Fusarium* ear rot and fumonisin contamination in maize. *Crop Science*, 61(4):2522-2533.
- Camargo, L. E. A. (2018) 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, 573.
- Camargo, R. D., Carvalho, M. L. M. D. (2008) Armazenamento a vácuo de semente de milho-doce. *Revista Brasileira de Sementes*, 30:131-139.
- Campbell, C. L., & Madden, L. V. (1990). Introduction to Plant Disease Epidemiology, *Department of Plant Pathology*, North Carolina State University. 18:532.
- Carmo, M. D., Cruz, S. C. S., Souza, E. D., Campos, L. F. C., Machado, C. G. (2012) Doses e fontes de nitrogênio no desenvolvimento e produtividade da cultura de milho-doce (*Zea mays* convar. *saccharata* var. *rugosa*). *Bioscience Journal*, 28(1):223-231.
- Carvalho, R. P. F. (2020). Toxicity of Pesticides on the Nematophagous Fungus *Pochonia Chlamydosporia* and their Effect on the Control of the Nematode *Meloidogyne Incognita*. *Master's thesis, Universidade do Minho (Portugal)*, 9-15.
- Chen, S., Zheng, Y., Fran, W., Chunmei, M. L. (2024) Desvendando as diversidades de qualidade pós-colheita de diferentes variedades de milho-doce. *Biologia e Tecnologia Pós-colheita*, 209.

- Chen, Y. L., Mao, X. W., Wang, J. X., Wu, L. Y., Zhou, M. G., Hou, Y. P. (2018) Activity of the dinitroaniline fungicide fluazinam against *Bipolaris maydis*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 148:8-15.
- Chhabra, R., Hossain, F., Muthusamy, V., Baveja, A., Mehta, B., Zunjare, R. U. (2019) Mapping and validation of *Anthocyanin1* pigmentation gene for its effectiveness in early selection of *shrunk2* gene governing kernel sweetness in maize. *Journal of Cereal Science*, 87:258-265.
- Cruz, L. L. D., Gonçalves, G. M. B., Glória, L. D. L., Pereira, S. M. D. F., Carlos, L. D. A., Vivas, M., Oliveira, D. B. D. (2022) Phenolic compounds, carotenoids, and antioxidant activity in a super-sweet corn hybrid. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 57:1-7.
- Cruz, C. A. (2014) Produtividade e rendimento industrial do milho-doce irrigado em função de dose e parcelamento de nitrogênio.
- Da Silva, D. D., Cota, L. V., Da Costa, R. V. (2020) Como manejar doenças foliares em milho. *Plantio Direto, Embrapa Milho e Sorgo - Artigo em periódico indexado (ALICE)*, 1:34-44.
- De Mejia, E. G. (2020) As cores da saúde: Química, bioatividade e demanda do mercado por alimentos coloridos e fontes alimentares naturais de corantes. *Revisão Anual de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 11:45-182.
- De Souza, R., Ogliari, J. B., Seledes, R. M., Maghelly, O. R., Júnior, F. W. R. (2021) Agronomic potential and indications for the genetic breeding of sweet corn local varieties carrying the *sugary1* gene. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 51: e69486-e69486.
- Dodson-Swenson, H. G., Tracy, W. F. (2015) Endosperm carbohydrate composition and kernel characteristics of *shrunk2-intermediate* (*sh2-i/sh2-i Su1/Su1*) and

shrunken2-intermediate-sugary1-reference (sh2-i/sh2-i su1-r/su1-r) in sweet corn. *Crop Science*, 55(6):2647-2656.

Ferreira, C. M., Saluci, J. C. G., Vivas, M., Santos, J. S., Andrade Junior, M. S., Vivas, J. M. S., Ramos, G. K. S., Graviana, G. A. (2024) Characterization of *Bipolaris maydis*: symptoms and pathogenicity in popcorn genotypes (*Zea mays* L.). *Brazilian Journal of Biology*, 84:e256799.

Gama, E. E. G. E., Parentoni, S. N., Pacheco, C. A. P., Oliveira, A. C. D., Guimarães, P. E. D. O., Santos, M. X. D. (2000) Estabilidade da produção de germoplasma de milho avaliado em diferentes regiões do Brasil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 35:1143-1149.

Gava, E., Faria, M. V., Zaluski, W. L., Rosa, J. C., Paiva, E. A., & Chiquito, N. R. (2021). Desempenho agrônômico de híbridos experimentais de milho super doce. *Horticultura Brasileira*, 39:199-204.

Goldman, I. L., Tracy, W. F. (1994) Kernel protein concentration in *sugary-1* and *shrunken-2* sweet corn. *HortScience*, 29:209-210.

Gonçalves, G. M. B., Pereira, M. G., Durães, N. N. L., Júnior, J. A. F., Crevelar, J. A., Viana, F. N., Gonçalves, V. M. L. (2018) Desenvolvimento e seleção de genótipos de milho superdoce (*sh2*) através de abordagens multivariadas. *Bragantia*, 77:536-545.

González, L. C., De Mello Prado, R., Silva, C. N. (2020) Desarrollo de la mancha foliar por *Bipolaris maydis*. *Cienc. Tecnol. Agropecuaria*, 21(3): e1508.

Han, X., Zhao, H., Ren, W., Lv, C., Chen, C. (2017) Resistance risk assessment for fludioxonil in *Bipolaris maydis*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 139:32-39.

Hossain, F., Muthusamy, V., Pandey, N., Vishwakarma, A. K., Baveja, A., Zunjare, R. U., Gupta, H. S. (2018) Marker-assisted introgression of *opaque2* allele for rapid

conversion of elite hybrids into quality protein maize. *Journal of Genetics*, 97:287-298.

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 of Applied Biology*, 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., 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.

Instituto Nacional de Meteorologia – INMET. (2024) Brasil. Dados da Estação Meteorológica A607 – Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro. Disponível em: <https://mapas.inmet.gov.br/>.

Ito, G. M., Brewbaker, J. L. (1981) Genetic advance through mass selection for tenderness in sweet corn. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 106(4):496-499.

James, W. C. (1971) *A manual of assessment keys for plant diseases*. *The American Phytopathological Society*, 1458:66.

Kump, K.L., Bradbury, P.J., Wisser, R.J., Buckler, E.S., Belcher, A.R., Oropeza-Rosas, M.A., Zwonitzer, J.C., Kresovich, S., McMullen, M.D., Ware, D., Balint-Kurti, P.J., Holland, J.B. (2011). Genome-wide association study of quantitative resistance to southern leaf blight in the maize nested association mapping population. *Nat. Genet.*, 43:163-8.

Kurosawa, R. N. F., Vivas, M., Júnior, A. T. A., Santos, A., Mafra, G. S., Guimarães, A. G., Schwantes, I. A. (2016) Reaction of popcorn germplasm to *Polysora* rust under field conditions and natural inoculation. *Tropical Plant Pathology*, 41(6):415-422.

- Kurosawa, R. N. F., Vivas, M., Amaral Junior, A. T., Ribeiro, R. M., Miranda, S. B., Pena, G. F., Leite, J. T., Mora, F. (2018) Popcorn germplasm resistance to fungal diseases caused by *Exserohilum turcicum* and *Bipolaris maydis*. *Bragantia*, 77:36-47.
- Kurosawa, R.F., do Amaral Júnior, A.T., Vivas, J.M.S., Vivas, M., Kamphorst, S.H. de Lima, V.J., de Almeida, R.N. (2020). Selection of popcorn hybrids resistant to southern corn leaf blight grown in distinct N availability. *Eur. J. Plant Pathol.*, 158:485-493.
- Lertrat, K., Pulam, T. (2007) Melhoramento para maior doçura em milho-doce. *Raça de Planta Internacional J.*, 1:27–30.
- Lim, S.M., Hooker, A. L. (1976) Estimates of combining ability for resistance to *Helminthosporium maydis* race O in a maize population. *Maydica*, 21: 121-128.
- Lima, S. F., Jesus, A. A., Vendruscolo, E. P., Oliveira, T. R., Andrade, M. G. O., Simon, C. A. (2020) Desenvolvimento e produção do milho-doce tratado com bioestimulante. *Horticultura Brasileira*, 38:94-100.
- Logroño, J. A. M., Herrera, C. A. M. (2020) Analysis of the productivity and competitiveness of the agricultural sector in Ecuador. *Dominio de las Ciencias*, 6(5):412-428.
- Martinez, A., Franzener, G., Stangarlin, J. R. (2010) Damages caused by *Bipolaris maydis* in *Panicum maximum* cv. Tanzânia. *Semina: Ciências Agrárias*, 31:863-870.
- Matiello, R. R., Barbieri, R. L., e Carvalho, F. I. F. D. (1997). Resistência das plantas a moléstias fúngicas. *Ciência Rural*, 27:161-168.
- Meddya, S., Meshram, S. (2024) Stomatal interactions and morphological variations in maize genotypes in response to *Bipolaris maydis* infection: insights from

histopathological and molecular investigations. *South African Journal of Botany*, 172:462-473.

Melotto, M., Underwood, W., Koczan, J., Nomura, K., He, S. Y. (2006) Função dos estômatos das plantas na imunidade inata contra invasão bacteriana. *Cell*, 126(5):969-980.

Meshram, S., Gogoi, R., Bashyal, B. M., Kumar, A., Mandal, P. K., Hossain, F. (2022) Comparative transcriptome analysis of fungal pathogen *Bipolaris maydis* to understand pathogenicity behavior on resistant and susceptible non-CMS maize genotypes. *Frontiers in Microbiology*, 13:837-056.

Michereff, S. J. (2001). Epidemiologia de doenças de plantas. Recife. Universidade Federal Rural de Pernambuco. Departamento de agronomia–Fitossanidade. 1-13

Morton, L. W., Nair, A., Gleason, M. (2017) *Climate, weather and sweet corn*. Sociology Technical Report 1048. Department of Sociology, Iowa State University, Ames, Iowa, 14.

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(3):210-217.

Nascimento, W. M., Pessoa, H. B. S. D. V., Boiteux, L. S. (1994) Qualidade fisiológica de sementes de milho-doce submetidas a diferentes processos de colheita, debulha e beneficiamento. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 29(8):1211-1214.

Nelson, R. R. (1978) Genética da resistência horizontal a doenças de plantas. *Revisão Anual de Fitopatologia*, 16(1):359-378.

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.

- Nopsa, J. F., Hernandez, Thomas-Sharma, S., Garrett, K. A. (2014) *Climate change and plant disease. Encyclopedia of Agriculture and Food Systems*, 232-243.
- Nyanapah, J. O., Ayiecho, P. O., Nyabundi, J. O., Otieno, W., Ojiambo, P. S. (2022) Genetic association of agronomic traits with partial resistance to gray leaf spot in elite maize germplasm. *Crop Science*, 62(6):2151-2168.
- Okumura, R. S., De Cinque Mariano, D., Franco, A. A. N., Zaccheo, P. V. C., Zorzenoni, T. O. (2013) Sweet corn: genetic aspects, agronomic and nutritional traits. *Applied Research & Agrotechnology*, 6(1):105-114.
- Oliboni, R., Faria, M. V., Neumann, M., Resende, J. T. V., Battistelli, G. M., Tegoni, R. G., & Oliboni, D. F. (2013). Análise dialélica na avaliação do potencial de híbridos de milho para a geração de populações-base para obtenção de linhagens. *Semina: Ciências Agrárias*, 34(1): 7-17.
- Oliveira Jr, L. F. G., Deliza, R., Bressan-Smith, R., Pereira, M. G., Chiquiere, T. B. (2006) Seleção de genótipos de milho mais promissores para o consumo *in natura*. *Food Science and Technology*, 26:159-165.
- Parreira, D. F., Zambolim, L., Neves, W. D. S., da COSTA, R. V., Cota, L. V., & da SILVA, D. D. (2014). A antracnose do milho. *Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas*, 8(1):11-27
- Parlevliet, J. E. (1997). Present concepts in breeding for disease resistance. *Fitopatogia Brasileira*, Brasília, 22(1):7-15.
- Pate, R. T., Weatherly, M., Hedges, L. B., Mideros, S., Fellows, G. M., Cardoso, F. (2017) Effects of foliar fungicide on whole plant brown midrib and floury corn varieties. *Journal of Animal Science*, 95(2):176-177.
- Pereira Filho, I. A., & Borghi, E. (2019). Sementes de milho: nova safra, novas cultivares e continua a dominância dos transgênicos.

- Quanto, M., Huang, J., Childs, H., Slavina, M., Harrison, A., Novotny, J., Yu, L., Pehrsson, P., Wu, X. (2023) Estabilidade dos carotenoides do milho-doce: Parte 2. Efeito do branqueamento, congelamento e enlatamento. *ACS Food Science & Technology*, 3(9):1590–1599.
- Reis, L. S. D., Pereira, M. G., Silva, R. F. D., Meireles, R. C. (2011) Efeito da heterose na qualidade de sementes de milho-doce. *Revista Brasileira de Sementes*, 33:310-315.
- Reyes, F. G., Varseveld, G. W., Kuhn, M. C. (1982) Sugar composition and flavor quality of high sugar (*shrunken*) and normal sweet corn. *Journal of Food Science*, 47(3):753-755.
- Robert, A. L. (1953) Some of the leaf blights of corn. In: Stefferud, A. (ed.) *Plant diseases, The yearbook of agriculture*. Superintendent of Documents, Washington, DC, p. 380–385.
- Saluci, J. C. G., Vivas, M., De Almeida, R. N., Dutra, I. P., Carlos, M. C., Do Amaral Júnior, A. T., Scapim, C. A. (2020) Potential of popcorn S4 lines for resistance to southern corn leaf blight. *Functional Plant Breeding Journal*, 2:79-87.
- Saluci, J. C. G., Vivas, M., Dutra, Í. P., De Almeida, R. N., Santos, J. S., Do Amaral Júnior, A. T., Pelúzio, J. B. E. (2022) Sources of resistance to *Bipolaris maydis* in popcorn lines under field conditions. *European Journal of Plant Pathology*, 165:545-557.
- Santos, J. S., Vivas, M., Do Amaral Júnior, A. T., Ribeiro, R. M., Mafra, G. S., Pena, G. F. (2019) Gene effects from *Bipolaris maydis* incidence and severity on popcorn. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, 14(4):e5677.
- Santos, J. S., Vivas, M., De Souza, Y. P., Júnior, A. T. D. A., De Almeida, R. N., Saluci, J. C. G., Vivas, J. M. S. (2020) Resistance of popcorn hybrid (*Zea mays*) to multiple diseases and correlation between leaf disease intensity and agronomic traits. *Australian Journal of Crop Science*, 14(11):1800-1809.

- Santos, P. H. A. D., Pereira, M. G., Trindade, R. D. S., Cunha, K. S. D., Entringer, G. C., Vettorazzi, J. C. F. (2014) Agronomic performance of super-sweet corn genotypes in the north of Rio de Janeiro. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 14:8-14.
- Scapim, C. A., Carvalho, C. G. P., Cruz, C. D. (1995) Uma proposta de classificação dos coeficientes de variação para a cultura do milho. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 30(5):683-686.
- Schauffler, G. P., Dos Anjos Verzutti Fonseca, J., Di Piero, R. M. (2022) Defense mechanisms involved in the resistance of maize cultivars to *Bipolaris maydis*. *European Journal of Plant Pathology*, 163(2):269-277.
- Silva, M. H. D. P. M., Dos Santos, J. D. M., De Oliveira, T. A., Silva, R. P., Dos Santos Neto, A. L., De Souza, A. A., Silva, R. B. (2021) Caracterização e produtividade de cultivares de milho-doce em fileiras duplas sob diferentes espaçamentos entre plantas. *Pesquisa Agropecuária Pernambucana*, 26(1).
- Silveira, B. D. S., Torres, J. L. R., Orioli Júnior, V., Favaro, J. H. D. S., Costa, L. L., Charlo, H. C. D. O. (2021) Cover crops in the production of green and sweet corn. *Horticultura Brasileira*, 39:94-101.
- Slot, M., Rifai, S. W., & Winter, K. (2021) Photosynthetic plasticity of a tropical tree species, *Tabebuia rosea*, in response to elevated temperature and [CO₂]. *Plant, Cell & Environment*, 44(7), 2347-2364.
- Sousa, A., Chavaglia, A. C., Civardi, E. A., Pinto, J. F. N., Reis, E. F. D. (2020) Genetic dissimilarity for resistance to foliar diseases associated with the agronomic potential in maize. *Revista Caatinga*, 33:936-944.
- Suzukawa, A. K., Pereira, C. B., Garcia, M. M., Contreras-Soto, R. I., Zeffa, D. M., Coan, M. M. D., Scapim, C. A. (2018) Diallel analysis of tropical and temperate

sweet and supersweet corn inbred lines. *Revista Ciência Agronômica*, 49:607-615.

Teixeira, F. F., Miranda, R. A., Paes, M. C. D., de Sousa, S. M., Gama, E. E., e Gama, E. E. G. E. (2013). Melhoramento do milho-doce. *Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo*. 154:32.

Teixeira, F. F., Coelho, R. S., Araújo, G. R., De Oliveira Pontello, I. (2018) Acessos do BAG Milho com grãos de tipo doce. *Embrapa, Sete Lagoas*.

Teixeira, F. F., Pereira Filho, I. A., Meirelles, W. F., Machado, J. R. D. A., Portugal, A. F., Cotta, L. V. (2022) BRS Deni - Super-sweet corn open-pollinated variety. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 22:e40892214.

Tracy, W. F., Galinat, W. C. (1987) Thickness and cell layer number of the pericarp of sweet corn and some of its relatives. *HortScience*, 22(4):645-647.

Tracy, W. F. (1993) Sweet corn. In: Kalloo, G., Bergh, B. O. (eds.) *Genetic improvement of vegetable crops*. Pergamon, Oxford, Reino Unido, p. 777-807.

Tracy, W. F. (1996) History, genetics, and breeding of supersweet (*shrunken2*) sweet corn. In: Janick, J. (ed.) *Plant Breeding Reviews*. John Wiley & Sons, Oxford, UK, p. 189-236.

Tracy, W. F. (2001) Sweet corn. In: Hallauer, A. R. (ed.) *Special grains*. 2ª ed. CRC Press, New York, p. 155-196.

Tosello, G. A. (1987) Milhos especiais e seu valor nutritivo. *Genética e Melhoramento do Milho no Brasil*. Fundação Cargill, Campinas, 1:375-409.

Ugur, A., Maden, H. A. (2015) Sowing and planting period on yield and ear quality of sweet corn (*Zea mays* L. var. *saccharata*). *Ciência e Agrotecnologia*, 39:48-57.

- Ullstrup, A. J. (1972) Os impactos das epidemias de ferrugem das folhas do milho no Sul de 1970-1971. *Revisão Anual de Fitopatologia*, 10(1):37-50.
- United States Department of Agriculture (USDA), National Agricultural Statistics Service, Vegetables 2022 Summary (February 2023) 3 USDA, National Agricultural Statistics Service.
- Van Der Plank, J. E. (1966) Resistência horizontal (poligênica) e vertical (oligogênica) contra a ferrugem. *Springer-Verlag*, 43(2):43-52.
- Williams, I. I., Martin, M. (2014) Few crop traits accurately predict variables important to productivity of processing sweet corn. *Field Crops Research*, 157:20-26.
- Wolfe, D. W., Azanza, F., Juvik, J. A. (1997) Sweet corn. In: Wien, H. C. (ed.) *The physiology of vegetable crops*. CAB International, New York, p. 461-478.
- Zhao, G., Sun, Q., Wang, J. (2007) Improving seed vigour assessment of super sweet and sugar-enhanced sweet corn (*Zea mays saccharata*). *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 35(3):349-356.
- Zwonitzer, J. C., Coles, N. D., Krakowsky, M. D., Arellano, C., Holland, J. B., McMullen, M. D., Balint-Kurti, P. J. (2010) Mapping resistance quantitative trait loci for three foliar diseases in a maize recombinant inbred line population—evidence for multiple disease resistance? *Phytopathology*, 100(1):72-79.