

**AVALIAÇÃO DE GERMOPLASMA DE MILHO-PIPOCA E ANÁLISE
GÊNÉTICA QUANTO À RESISTÊNCIA À MANCHA DE
HELMINTOSPORIOSE MAIDIS**

JULIO CESAR GRADICE SALUCI

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE
FLUMINENSE DARCY RIBEIRO**

**CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ
MARÇO - 2023**

**AVALIAÇÃO DE GERMOPLASMA DE MILHO-PIPOCA E ANÁLISE
GÊNÉTICA QUANTO À RESISTÊNCIA À MANCHA DE
HELMINTOSPORIOSE MAIDIS**

JULIO CESAR GRADICE SALUCI

“Tese 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 Doutor em Produção Vegetal”

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Vivas

**CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ
MARÇO – 2023**

FICHA CATALOGRÁFICA

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pelo autor.

S181

Saluci, Júlio Cesar Gradice.

Avaliação de germoplasma de milho-pipoca e análise genética quanto à resistência a mancha de helmintosporiose maidis / Júlio Cesar Gradice Saluci. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2023.

77 f.

Inclui bibliografia.

Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2023.

Orientador: Marcelo Vivas.

1. Milho-pipoca. 2. Melhoramento vegetal . 3. Resistência genética. 4. *Bipolaris maydis*. 5. Herança genética . I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 630

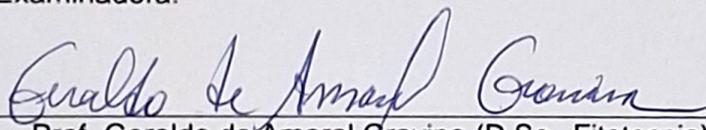
AVALIAÇÃO DE GERMOPLASMA DE MILHO-PIPOCA E ANÁLISE
GENÉTICA QUANTO À RESISTÊNCIA À MANCHA DE
HELMINTOSPORIOSE MAIDIS

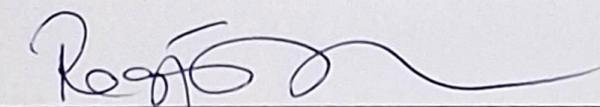
JULIO CESAR GRADICE SALUCI

“Tese 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 Doutor em Produção Vegetal”

Aprovada em 10 de março de 2023

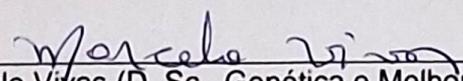
Comissão Examinadora:


Prof. Geraldo de Amaral Gravina (D.Sc., Fitotecnia) – UENF


Prof. Rogério Figueiredo Daher (D.Sc., Produção Vegetal) – UENF

Documento assinado digitalmente
gov.br JOAO BATISTA ESTEVES PELUZIO
Data: 13/12/2024 12:50:10-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

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


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

Aos meus pais, José Vicente Saluci (in memoriam) e Angela Maria Gradice Saluci.

“Mas aqueles que esperam no Senhor renovam as suas forças. Voam alto como águias; correm e não ficam exaustos, andam e não se cansam.” Isaías 40:31

“Eis que farei uma coisa nova, e, agora será a luz, porventura, não a sabereis? Eis que porei um caminho novo no deserto e rios, no ermo.” Isaías 43:19

AGRADECIMENTOS

A DEUS, em primeiro, pela sua constante presença em minha vida, pelas perceptíveis ajudas, sobretudo, nos momentos de dificuldades pessoais, familiares e profissionais;

Aos meus pais, José Vicente Saluci (*in memoriam*) e Angela Maria Gradice Saluci, pela força e confiança em mim depositadas para a conclusão deste curso. Agradeço pelos conselhos passados durante esse período e, principalmente, pelo amor, carinho e educação;

A todos os demais familiares e amigos que me apoiaram e contribuíram para a realização deste sonho. Quero expressar minha gratidão especial ao meu primo Jederson Assis, pela constante ajuda e incentivo ao longo da minha formação acadêmica;

Ao meu orientador, Professor Doutor Marcelo Vivas, pelas sugestões realizadas para este trabalho, pelos incentivos e ensinamentos passados ao longo do curso e por toda confiança depositada em mim;

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

Aos professores Dr. Geraldo de Amaral Gravina e Dr. Rogério Figueiredo Daher, pela participação e pelas contribuições realizadas nas diferentes etapas deste trabalho;

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

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa;

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

SUMÁRIO

RESUMO.....	V
ABSTRACT.....	VII
INTRODUÇÃO GERAL.....	9
REVISÃO DE LITERATURA.....	11
Características botânicas e origem do milho-pipoca	11
Produção e consumo de milho-pipoca.....	11
Doenças na cultura do milho-pipoca.....	13
Mancha de helmintosporiose maidis - MHM	14
Melhoramento genético e herança da resistência à Mancha de helmintosporiose maidis – MHM em milho-pipoca.....	15
AVALIAÇÃO E SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE MILHO-PIPOCA PARA RESISTÊNCIA À MANCHA DE HELMINTOSPORIOSE MAIDIS	18
ANÁLISE GENÉTICA DA RESISTÊNCIA À MANCHA DE HELMINTOSPORIOSE MAIDIS EM MILHO-PIPOCA.....	41
CONCLUSÕES	64
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	65

RESUMO

SALUCI; Julio Cesar Gradice; D.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; Março de 2023; AVALIAÇÃO DE GERMOPLASMA DE MILHO-PIPOCA E ANÁLISE GENÉTICA QUANTO À RESISTÊNCIA À MANCHA DE HELMINTOSPORIOSE MAIDIS; Orientador: Prof. Ds.c. Marcelo Vivas.

A mancha de helmintosporiose maidis (MHM) é uma importante doença foliar do milho-pipoca e o uso de genótipos resistentes é a opção de controle mais indicada para essa doença. Entretanto, são restritas as fontes de resistência bem como informações a respeito da herança e efeitos gênicos para uso em programas de melhoramento. Nesta pesquisa, objetivou-se identificar novas fontes de resistência em um conjunto de linhagens endogâmicas bem como estudar sua herança. No primeiro capítulo, foram avaliadas 184 linhagens a campo em duas épocas de avaliação, para a incidência e severidade dos sintomas da MHM. Um conjunto de linhagens candidatas às fontes de resistência (LCFR) foi selecionado e avaliado em casa de vegetação em condições de inoculação artificial. A partir dos dados da área abaixo da curva de progresso de doença (AACPD), com base em avaliações de severidade, foi realizada análise de variância e foi aplicado um algoritmo de agrupamento de médias. Em condições de campo, as linhagens apresentaram alta variabilidade fenotípica para a incidência e severidade da MHM possibilitando selecionar as de maior potencial para resistência, sendo selecionadas 52,7% do total. Em casa de vegetação para a AACPD, o algoritmo permitiu a identificação de cinco grupos, sendo que o grupo de interesse, apresentando as menores médias, reuniu 23 linhagens. Esse grupo reuniu linhagens com alta resistência à MHM, potencial para rendimento de grãos e capacidade de expansão, além de linhagens que se destacaram com bom desempenho como genitores em pesquisa já realizadas. No segundo capítulo, duas linhagens endogâmicas contrastantes para a resistência à MHM foram selecionadas para o estudo, sendo: Parental 1 (P_1) a linhagem L353 (Resistente), e parental 2 (P_2) a linhagem L653 (Suscetível). A partir do cruzamento entre L353 e L653 foi obtida a geração F_1 , e pela autofecundação da geração F_1 foi obtida a geração F_2 . As gerações de retrocruzamento, RC_1 e RC_2 foram obtidas pelo cruzamento entre a geração F_1 e os respectivos parentais P_1 e P_2 . Estas gerações foram inoculadas e avaliadas em casa de vegetação quanto à severidade dos sintomas. A partir das avaliações de severidade, foi calculada a AACPD. As gerações P_1 e P_2 foram contrastantes quanto a reação à doença, apresentando médias de AACPD de 136,5 e 461,9, respectivamente. A geração F_1 apresentou média de 132,6, estatisticamente igual ao P_1 . As demais gerações apresentaram médias de 388,6, 372,7 e 554,0, correspondendo, respectivamente, às gerações F_2 , RC_1 e RC_2 . A

análise genética da resistência à MHM demonstrou efeitos aditivos e não aditivos relacionados à resistência, embora maior variância genética de dominância tenha sido observada. Efeitos de interação digênica do tipo dominante x dominante também foram observados. Dessa forma, a exploração dos efeitos de dominância deve ser utilizada nos programas de melhoramento e a hibridação poderá ser um método utilizado para a obtenção de cultivares resistentes à MHM em milho-pipoca.

Palavras-chave: melhoramento vegetal, fontes de resistência, resistência genética, *Bipolaris maydis*, herança genética.

ABSTRACT

SALUCI; Julio Cesar Gradice; D.Sc.; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; Março de 2023; EVALUATION OF POPCORN GERMOPASM AND GENETIC ANALYSIS FOR RESISTANCE TO SOUTHERN CORN LEAF BLIGHT; Adviser: Prof. Ds.c. Marcelo Vivas.

Southern corn leaf blight (SCLB) is an important foliar disease of popcorn, and the use of resistant genotypes is the most recommended control option for this disease. However, sources of resistance are restricted as well as information regarding inheritance and gene effects for use in breeding programs. In this research, the objective was to identify new sources of resistance in a set of inbred lines as well as to study its inheritance. In the first chapter, 184 lines were evaluated in the field during two evaluation periods for the incidence and severity of SCLB symptoms. A set of candidate lines for sources of resistance (CLSR) was selected and evaluated in a greenhouse under artificial inoculation conditions. From the data on the area under the disease progress curve (AUDPC), based on severity assessments, analysis of variance was performed, and a mean grouping algorithm was applied. Under field conditions, the lines showed high phenotypic variability for the incidence and severity of SCLB, making it possible to select those with the greatest potential for resistance, 52.7% of the total being selected. In a greenhouse for AUDPC, the algorithm allowed the identification of five groups, with the group of interest, presenting the lowest averages, comprising 23 lineages. This group brought together lines with high resistance to SCLB, potential for grain yield and expansion capacity, in addition to lines that stood out with good performance as parents in research already carried out. In the second chapter, two contrasting inbred lines for resistance to SCLB were selected for the study, being: Parental 1 (P_1) the L353 (Resistant) line, and Parental 2 (P_2) the L653 (Susceptible) line. From the cross between L353 and L653 the F_1 generation was obtained, and by self-fertilization of the F_1 generation the F_2 generation was obtained. The backcross generations, RC_1 and RC_2 , were obtained by crossing the F_1 generation and the respective P_1 and P_2 parents. These generations were inoculated and evaluated in a greenhouse for the severity of symptoms. Based on the severity assessments, the AUPDC was calculated. The P_1 and P_2 generations were contrasting in terms of reaction to the disease, presenting average AUPDC of 136.5 and 461.9 respectively. The F_1 generation had an average of 132.6, statistically equal to P_1 . The other generations presented averages of 388.6, 372.7 and 554.0, corresponding, respectively, to the F_2 , RC_1 and RC_2 generations. Genetic analysis of resistance to SCLB demonstrated additive and non-additive effects related to

resistance, although greater genetic variance in dominance was observed. Dominant x dominant digenic interaction effects were also observed. Therefore, the exploration of dominance effects should be used in breeding programs and hybridization could be a method used to obtain cultivars resistant to SCLB in popcorn.

Keywords: plant breeding, sources of resistance, genetic resistance, *Bipolaris maydis*, genetic inheritance.

INTRODUÇÃO GERAL

A pipoca é um dos alimentos mais populares e saborosos do mundo, com uma história de mais de 5.000 anos. Além do que, pode ser encontrada em diversas formas e em diversos setores do comércio, desde grãos em embalagens comuns, em embalagens para micro-ondas, e mesmo pipoca pronta para consumo, o que é muito comum em cinemas e nas praças de diversas cidades (Freitas et al., 2013; Lima et al., 2016; Jiang et al., 2023).

No Brasil, a cultura do milho-pipoca tem ganhado destaque no cenário agrícola como uma opção vantajosa para os produtores, devido ao fato de possuir alta rentabilidade em consequência do elevado valor agregado, principalmente em relação ao milho comum (Catão e Caixeta, 2017). Seu cultivo tem sido estimulado pela alta demanda, tendo também ocorrido o desenvolvimento e importação de novas cultivares adaptadas às condições edafoclimáticas do Brasil aumentadas nos últimos anos (Catão e Caixeta, 2017).

Embora possua relevância na agricultura, a cultura ainda carece de melhorias em alguns aspectos para uma maior difusão e adaptação às novas regiões do país como a resistência às doenças. Estima-se que no mundo ocorra uma perda média de 22,5% da produção do milho comum em decorrência das doenças, podendo-se esperar valores aproximados para milho-pipoca, sobretudo por ser este último mais suscetível às pragas e doenças (Savary et al., 2019).

Dentre as principais doenças de ocorrência na cultura, a mancha de helmintosporiose maidis (MHM) se destaca. Esta doença foi responsável por uma das maiores epidemias no milho nos anos 70 do século XX, causando prejuízos, aproximadamente, de 1 bilhão de dólares nos Estados Unidos da América, e perdas severas também foram relatadas na China (Ullstrup, 1972). Atualmente, a MHM está presente nos cultivos de milho comum e de milho-pipoca em países como Estados Unidos, Índia, China, Brasil e países da Europa (Wei et al., 1988; Ullstrup, 1972; Kurosawa et al., 2020; Saluci et al., 2023).

A MHM é causada pelo fungo *Bipolaris maydis* (teleomorfo = *Cochliobolus heterostrophus*). Esta doença possui alto poder de acometimento das plantas, uma vez que, o fungo infecta a planta e promove a morte do tecido foliar, reduzindo a área fotossintética ativa, o que impacta diretamente na produção (Nihei e Ferreira, 2012). Perdas em rendimento de grãos em torno de 50% e 70% da produção foram associadas a esta doença, em condições de alta intensidade (Ali e Yan, 2012; Hussain et al., 2016).

Diversas estratégias podem ser adotadas para reduzir as perdas causadas

pelas doenças, destacadamente a rotação de cultura, a utilização de agrotóxicos, o controle genético e a combinação de estratégias. A principal estratégia é o uso de genótipos resistentes, no entanto, para o milho-pipoca, ainda há uma necessidade de estudos visando à obtenção e recomendação de genótipos que agregue resistência, produtividade, e que produza grãos com alta capacidade de expansão (Ayiga-Aluba et al., 2015).

Para o desenvolvimento de cultivares resistentes é necessário que haja antes a identificação de genótipos doadores de genes de resistência. Nesse cenário, a avaliação de coleções de germoplasmas é fundamental.

O conhecimento da variabilidade genética nos materiais de milho-pipoca quanto a reação aos patógenos causadores da MHM ainda são restritos, não sendo conhecidos genótipos com elevada resistência, sobretudo, dentre os brasileiros. Algumas pesquisas já realizadas, com parte dos materiais desenvolvidos pela Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, apontaram existir variabilidade genética quanto à resistência a MHM (Kurosawa et al., 2018; Saluci, 2023), no entanto, tais pesquisas abrangeram poucos materiais. Soma-se a isto a dinamicidade no desenvolvimento, e incorporação de novos genótipos que demandam caracterização, fazendo-se necessária a caracterização destes quanto à reação à MHM.

Outro ponto importante no desenvolvimento de cultivares resistentes às doenças é o conhecimento da herança, efeitos genéticos, número de alelos, natureza e magnitude da ação gênica que governa o mecanismo de resistência, a fim de empregar os melhores métodos e estratégias de melhoramento para se obter ganhos significativos e de forma mais eficaz.

Algumas metodologias podem ser empregadas no estudo de herança de caracteres, contudo, a análise de médias de gerações é uma das mais indicadas para esse tipo de estudo (Hayman, 1958). Embora alguns avanços tenham sido alcançados sobre a herança da resistência à MHM em milho-comum, pouco se sabe a respeito no milho-pipoca, tornando-se oportuno o estudo de herança por meio da análise de médias de gerações a partir de fontes de resistência genética em milho-pipoca.

Nesse aspecto, os principais objetivos e ações realizados neste trabalho foram: i) caracterizar a coleção de germoplasma de milho-pipoca da UENF quanto à resistência à MHM em condição de campo e sob inoculação em casa de vegetação; ii) selecionar genótipos com resistência genética à MHM em germoplasma de milho-pipoca; e iii) estudar a herança da resistência à MHM em milho-pipoca por meio da análise de médias de gerações.

REVISÃO DE LITERATURA

Características botânicas e origem do milho-pipoca

O milho-pipoca pertence ao grupo dos milhos especiais, juntamente com o milho branco, milho doce, milho verde e o minimilho. O milho-pipoca apresenta como principal característica a capacidade de expandir os grãos quando aquecidos. A expansão do milho-pipoca ocorre pela ruptura do pericarpo após a temperatura e a pressão interna dos grãos atingirem valores aproximados de 177 °C e 930 kPa, respectivamente (Soylu & Tekkanat, 2007; Senhorinho et al., 2019). Nestas condições, o amido da pipoca se expande e forma a pipoca expandida (Cañizares et al., 2020; Hosney et al., 1983). A pipoca, por sua vez, é uma das guloseimas mais populares no mundo, além de apresentar excelentes propriedades funcionais e nutricionais (Park et al., 2000).

O milho-pipoca é uma cultura anual com plantas monoicas, alógamas e diploides com $2n = 2x = 20$ cromossomos (Gaut et al., 2000). Seu centro de origem é o continente americano (Goodman, 1980; Buckler e Stevens, 2005). O milho-pipoca também possui grãos duros e pequenos, que podem ser redondos ou pontiagudos, em geral, apresenta grãos menores quando comparado ao do milho comum, porte reduzido, colmo mais fino, menor número de folhas, maior prolificidade, além de maior suscetibilidade às pragas e doenças, acamamento e baixa tolerância à seca (Ziegler e Ashman, 1994; Sawasaki, 2001). Ademais, as outras características botânicas são análogas às do milho comum (Zinsly e Machado, 1987; Sawasaki, 2001; Pereira Filho et al., 2010).

Embora a origem genética do milho-pipoca ainda não esteja bem esclarecida, existem duas hipóteses a esse respeito. A primeira, supõe que o milho-pipoca teve sua origem do milho comum, do tipo flint, uma vez que este possui uma baixa capacidade de expandir seus grãos (Erwin, 1949). Uma segunda teoria, diz que o ancestral do milho-pipoca é o teosinto, que ao longo do tempo foi modificado pelo homem, através de seleção (Goodman e Smith, 1987). Embora as hipóteses apresentadas não sejam conclusivas a respeito da origem genética do milho-pipoca, este teve um papel importante no desenvolvimento pré-histórico do milho para a formação do patrimônio genético atual da espécie *Zea mays* L. (Zinsly e Machado, 1987).

Produção e consumo de milho-pipoca

No Brasil, os levantamentos e a divulgação sobre a cultura, em termos de consumo, produção e produtividade, ainda são restritos. Na maioria dos casos, essas informações ficam retidas nas empresas privadas, somando-se ainda o fato dos levantamentos de safras realizados pelos órgãos públicos serem obtidos em conjunto com o milho comum (Coan, Pinto e Scapim, 2018).

Embora existam poucas informações divulgadas, sabe-se que no passado, a cerca de 15 a 20 anos, a produção nacional era pouco expressiva. A maior parte do milho-pipoca consumido nacionalmente provinha de importações, correspondendo a cerca de 75% do total consumido (Freitas Júnior et al., 2006). Com o passar dos anos, perceberam-se mudanças no cenário, destacadamente devido a dois fatores: i) as parcerias entre empresas empacotadoras dos grãos e produtores, fato que incentivou e impulsionou o aumento do número de produtores do grão no país e ii) o melhoramento genético da cultura, ofertando materiais mais adaptados. Tais fatores contribuíram positivamente para o avanço da cultura no país.

No ano agrícola 2004/05 as importações começaram a diminuir, de modo que apenas 20 mil toneladas de um total estimado de 70 a 80 mil consumidos vieram de outros países (Scapim et al., 2006). Tais resultados são associados à ampla utilização do híbrido IAC-112 e dos híbridos americanos, o que impulsionou o aumento da produção e a qualidade do milho-pipoca brasileiro. Quatro anos depois, para a safra de 2008/09, sete cultivares de milho-pipoca foram disponibilizadas para comercialização nomeadas como: Zélia (híbrido triplo), Jade (híbrido triplo), IAC-112 (híbrido simples modificado), IAC-125 (híbrido triplo), BRS Angela (variedade), RS-20 (variedade) e UFVM2-Barão-Viçosa (variedade) (Scapim et al., 2010).

Tais avanços no melhoramento da cultura e disponibilidade de cultivares melhoradas culminaram em outro fato importante, a redução observada na importação dos grãos da Argentina que, até então, era um dos principais países entre os exportadores de milho-pipoca para o Brasil. Em 2011, foram importados 12 mil t de grãos, 5,1 mil t em 2012, 6,7 mil t em 2013 e 2,83 mil t em 2014 (SENASA, 2018).

Em termos de consumo de pipoca, tem-se os Estados Unidos da América (EUA) como maior consumidor, seguido pelo Brasil. Nos EUA o consumo gira em torno de 43 litros de pipoca por pessoa anualmente. (POPCORN, 2020). O Brasil é o segundo maior consumidor de pipoca no mundo. Em 2018, os brasileiros consumiram aproximadamente cerca de 260 mil t movimentando cerca de US\$ 628 milhões de dólares. A expectativa é que em 2024, o consumo dos brasileiros chegue a 385 mil t movimentando cerca de US\$ 850 milhões de dólares. Em relação à produção global, o Brasil ocupa o 3º lugar no ranking, com produção estimada em 225 mil t em 2020.

Os EUA são os maiores produtores mundiais do cereal, com uma produção aproximada de 560 mil t em 2020. Em segundo lugar, a Argentina, com produção de 240 mil t produzidas também em 2020 (Bertolucci, 2022).

Recentemente, a divulgação sobre a produção de milho no Brasil apontou o estado do Mato Grosso como o maior produtor de milho-pipoca, tendo produzido cerca de 268,402 mil toneladas em uma área cultivada de 60.017 hectares no ano agrícola de 2018, além de uma expansão de 11,6% na área cultivada no ano de 2019 (Kist, 2019).

Doenças na cultura do milho-pipoca

As doenças do milho representam uma ameaça significativa à capacidade de produção agrícola, podendo causar perdas econômicas significativas. As doenças mais comuns da cultura são causadas por bactérias, fungos ou vírus e, sob as condições ideais, estes patógenos podem se espalhar extremamente rápido e a infecção de uma única planta pode levar rapidamente a uma severa epidemia da doença no campo (Singh et al., 2020; Li et al., 2021).

O milho-pipoca é acometido pelos mesmos patógenos causadores de doenças no milho-comum, no entanto, considera-se o milho-pipoca mais suscetível às principais pragas e doenças (Sawasaki, 2001). Estima-se que, no mundo, ocorra uma perda média de 22,5% da produção do milho em decorrência das principais doenças (Savary et al., 2019).

Em geral, as principais doenças de ocorrência no milho-pipoca, que aparecem na literatura, são: a mancha de helmintoporióse maidis, causada pelo fungo *Bipolaris maydis* (teleomorfo = *Cochliobolus heterostrophus*) (Saluci et al., 2023); a mancha de helmintosporiose turcicum, causada pelo fungo hemibiotrófico *Exserohilum turcicum* (teleomorfo = *Setosphaeria túrcica*) do filo Ascomycota (Kurosawa et al., 2018); as ferrugens do milho, em maior destaque a ferrugem polysora, causada pelo fungo *Puccinia polysora* Underw (Kurosawa et al., 2016); a mancha branca, que inicialmente foi descrita sendo causada pelo fungo *Phaeosphaeria maydis*, mas a dificuldade em reproduzir os sintomas com inoculação e a posterior descoberta da bactéria *Pantoea ananatis* associada às lesões, evidenciaram o complexo de fitopatógenos relacionadas à mancha branca do milho onde o fungo *P. maydis* e outros atuam como oportunistas após a infecção por *P. ananatis* (Arnhold, 2008; Lana et al., 2012; Costa et al., 2012); a cercosporiose do

milho, causada pelo fungo *Cercospora zeae-maydis* (Vieira et al., 2016); e a podridão de espiga, causada por fungos do gênero *Fusarium* spp. (Almeida et al., 2021).

Mancha de helmintosporiose maidis – MHM

A mancha de *helmintosporium maidis* (MHM) é uma importante doença foliar do milho. Habitualmente ocorre em todo o mundo, principalmente em regiões de clima tropical. O poder de acometimento da MHM é alto, podendo resultar em perdas expressivas uma vez que causa morte do tecido foliar. Em condições severas a perda em rendimento de grãos pode chegar a 70%. Historicamente foi responsável por prejuízos de aproximadamente US\$ 1 bilhão nos EUA nos anos 70 do século XX. Perdas severas também foram relatadas na China (Ullstrup, 1972; Pan et al., 2010; Ali et al., 2011; Singh et al., 2012).

A MHM é causada pelo fungo filamentos, necotrófico, *Bipolaris maydis* (teleomorfo = *Cochliobolus heterostrophus*) pertencente ao filo Ascomycota. O fungo possui três raças morfológicamente semelhantes, a saber: “T”, “O” e “C”. As raças T e C são patogênicas somente aos genótipos de milho com citoplasma macho-estéril “T” e “C”, respectivamente. Por outro lado, a raça “O” causa danos em qualquer tipo de genótipo (Costa et al., 2014). A sintomatologia apresentada pelas raças do patógeno possuem pouca diferença entre si; em geral, as lesões associadas ao gênero são elípticas ou fusiformes. A raça “T” corresponde às lesões ovais e levemente maiores que as causadas pela raça “O”, e apresenta uma borda de coloração marrom escura, causando lesões em toda a parte das plantas. Os sintomas causados pela raça “C” são caracterizados por lesões estreitas, alongadas e necróticas (Costa et al., 2014; Ali et al., 2011; Sun et al., 2020).

A ocorrência de epidemias da MHM em campos de milho está fortemente associada às condições climáticas. Regime pluviométrico, umidade relativa do ar e temperaturas, são os três principais fatores climáticos que interferem na doença (Peet e Maschtti, 1972). A infecção por *B. maydis* é favorecida em condições de alta umidade relativa do ar, onde a presença de água livre sobre as folhas de milho proporciona a germinação dos conídios e penetração do fungo no tecido vegetal, temperaturas ótimas para a infecção estão compreendidas entre 22 e 30°C (Martinez et al., 2010).

O controle da MHM tem sido realizado por dois principais métodos, o controle químico, com a utilização de agrotóxicos, e o genético, com a utilização de genótipos resistentes (Ye et al., 2012). O controle genético tem sido trabalhado de forma mais

recorrente, uma vez que o fungo tem adquirido resistência aos principais princípios ativos utilizados como fungicida e, também, por questões ambientais (Raid et al., 1991; Montesinos, 2003; Ye et al., 2012).

No que tange ao controle genético da MHM, as raças “T” e “C” são específicas aos genes que conferem citoplasma macho-estéril CMS-T e CMS-C, respectivamente. A raça “O” tem controle gênico por genes nucleares que podem ser de efeito poligênico (Holley e Goodman 1989), dois genes recessivos ligados (Craig e Fajemisin 1969, Thompson e Berquist, 1982, Chang e Peterson 1995) ou um gene recessivo (Smith e Hooker, 1973). Neste último caso, o gene confere resistência apenas nas fases antes do florescimento. Quanto aos efeitos poligênicos, estudos de QTLS têm identificado regiões importantes associadas à resistência (Martins et al., 2019). Regiões dos cromossomos 8, 9 e 10 foram associadas à resistência à MHM (Negeri et al., 2011) e cromossomos 3 e 9 (Balint-Kurti PJ et al., 2006). Relata-se ainda a respeito da raça O, sobre a ação gênica, efeitos aditivos e não aditivos, associados ao controle genético da resistência (Burnette e White, 1985; Lim e Hooker, 1976; Kump et al., 2011; Kurosawa et al., 2020; Santos et al., 2019).

Nos programas de melhoramento de milho para resistência à MHM, os estudos mais frequentes têm se concentrado na identificação de fontes de resistência e na obtenção de híbridos a partir de linhagens resistentes (Chandrashekara et al., 2014; Kurosawa et al., 2020; Saluci et al., 2023). Semelhante ao que tem sido empregado no melhoramento da mancha de *helminthosporium turcicum* (MHT) e outras doenças do milho de controle poligênico, a seleção recorrente também se adequa como método a ser utilizado.

Melhoramento genético e herança da resistência à Mancha de helmintosporiose maidis – MHM em milho-pipoca

O melhoramento genético é um dos principais fatores que tem contribuído para a manutenção e o progresso do cultivo do milho-pipoca no Brasil. A oferta de cultivares adaptadas e superiores para as características agrônomicas e sensoriais é o principal objetivo dos programas de melhoramento da cultura (Caranhato et al., 2022).

Entre os desafios inerentes à cultura para o melhoramento genético, destacam-se a dificuldade em alcançar ganhos genéticos para produtividade e capacidade de expansão, bem como os percalços ocasionados pelas doenças que acometem a cultura (Jele et al., 2014; Vieira et al., 2016).

Em países de clima tropical, como o Brasil, as doenças fúngicas são fatores extremamente preocupantes, principalmente no milho-pipoca, que é mais suscetível quando comparado ao milho comum. No entanto, o melhoramento genético tem buscado solucionar tais problemas de forma eficiente (Kurosawa et al., 2018; Almeida et al., 2021).

Tanto para o milho comum quanto para o milho-pipoca, a mancha de helmintosporiose maidis (MHM) tem se tornado uma doença preocupante. Esta doença tem estado presente nas lavouras e, principalmente, nos cultivos de safrinha. Contudo, o manejo com utilização de genótipos resistentes tem sido adotado com bons resultados (Ye et al., 2012).

Embora a resistência às doenças seja, frequentemente, considerada como característica secundária em programas de melhoramento, frente às características como produtividade e, no caso do milho-pipoca, também a capacidade de expansão, a busca por genótipos resistentes à MHM tem sido trabalhada de maneira mais assídua por pesquisadores (Kurosawa et al., 2020; Saluci et al., 2023; Ferreira et al., 2024).

Em se tratando de melhoramento genético para a resistência às doenças em plantas, as estratégias e métodos adotados pelos melhoristas consistem na identificação de fontes de resistência, estudo de herança e introdução e exploração dos genes de resistência no desenvolvimento de novas cultivares (Thurow et al., 2018).

A identificação de fontes de resistência pode ser realizada em quatro grupos principais de genótipos, priorizados em ordem crescente de importância. Em primeiro lugar, destacam-se as cultivares elite, sendo estas as mais recomendadas, uma vez que apresentam baixas frequências de alelos indesejáveis. Em segundo plano, a coleção de germoplasma figura como uma das principais fontes de genes de resistência para as espécies cultivadas. Dada a sua significativa relevância, é comum que os programas de melhoramento mantenham suas próprias coleções de germoplasma. Os genótipos silvestres constituem o terceiro grupo, sendo aqueles relacionados às plantas cultivadas que podem servir como fontes valiosas de genes de resistência aos diversos estresses, tanto bióticos quanto abióticos. Por fim, as mutações, sejam elas naturais ou induzidas pela exposição aos agentes mutagênicos, compõem o quarto grupo de fontes de resistência (Thurow et al., 2018).

Essa variedade de fontes oferece uma abordagem abrangente para identificar e explorar a resistência em diferentes contextos, proporcionando uma base sólida para programas de melhoramento genético.

Algumas fontes de resistência à MHM foram relatadas e são utilizadas em estudos com milho comum, como a LM5 (Kaur et al., 2019) e a H95 (Zhao et al.,

2012). Para o milho-pipoca, algumas pesquisas apontaram também genótipos com elevados níveis de resistência a esta doença. Segundo Kurosawa et al. (2018), as populações ARZM-05083, ARZM-07049 e PARA-172 possuem elevados níveis de resistência. Da mesma forma, Saluci et al. (2023) identificaram potencial de resistência nas linhagens L623 e L624, e Ferreira et al. (2024) indicaram as linhagens L353, L354 e L624 como fontes de resistência à MHM.

A respeito da herança da resistência à MHM, para o milho comum, as pesquisas demonstram existir efeitos poligênicos (Holley e Goodman, 1989) e, em alguns casos, foram identificados dois genes recessivos ligados (Craig e Fajemisin, 1969; Thompson e Berquist, 1982; Chang e Peterson, 1995) ou um gene recessivo (Smith e Hooker, 1973), neste último caso, o gene confere resistência apenas nas fases antes do florescimento.

Em milho comum e em milho-pipoca, relata-se sobre a ação gênica, efeitos aditivos e não aditivos associados ao controle genético da resistência (Burnette e White, 1985; Lim e Hooker, 1976; Kump et al., 2011; Kurosawa et al., 2020; Santos et al., 2019).

Os estudos realizados até o momento, a respeito da herança e efeitos gênicos da resistência de milho-pipoca à MHM foram, em sua maioria, realizados por meio de delineamentos genéticos de dialelos. Embora este delineamento permita estimar importantes informações relacionadas à herança da resistência, o delineamento de análise de médias de gerações é o mais indicado para fornecer este tipo de informação (Hayman, 1958).

O estudo da análise de médias e gerações permite a realização de ensaios envolvendo parentais P_1 e P_2 , gerações F_1 e F_2 e retrocruzamentos (Schmidt et al., 2016). Este método é considerado eficiente para características qualitativas e quantitativas. No primeiro caso, as análises estatísticas mais comuns são os testes para hipóteses de aderência quanto ao número de genes, geralmente nas gerações segregantes, baseando-se nas leis mendelianas (Bearzoti, 2004; Zandoná, 2006). No segundo caso, a utilização de modelos de genética quantitativa é mais apropriada. A abordagem descrita por Mather e Jinks (1984) é a mais comum, na qual um modelo aditivo-dominante é ajustado previamente a partir das médias das gerações disponíveis no trabalho, e então é feita uma comparação entre as médias observadas e previstas pelo modelo e seus parâmetros (m = média, a = efeito aditivo e d = efeito de dominância). Modelos mais complexos com adição de efeito epistáticos podem também ser testados.

A respeito deste delineamento, não foram encontradas na literatura pesquisas que buscaram estudar a herança da resistência genética à MHM em germoplasma de milho-pipoca por meio da análise de médias de gerações.

AVALIAÇÃO E SELEÇÃO DE GENÓTIPOS DE MILHO-PIPOCA PARA RESISTÊNCIA À MANCHA DE HELMINTOSPORIOSE MAIDIS

Artigo a ser submetido à revista Plant Pathology:

Resumo

A mancha de helmintosporiose maidis (MHM), causada por *Bipolaris maydis*, é uma importante doença foliar do milho-pipoca. O uso de genótipos resistentes é a opção de controle mais indicada para essa doença, entretanto, fontes de resistência para uso em programas de melhoramento são restritas em germoplasma de milho-pipoca. Nesta pesquisa, objetivou-se identificar novas fontes de resistência em um painel de linhagens endogâmicas de milho-pipoca. Foram avaliadas 184 linhagens a campo em duas épocas do ano quanto à incidência e severidade dos sintomas da MHM. A partir da análise de variância conjunta e do agrupamento de médias, um conjunto de linhagens candidatas às fontes de resistência (LCFR) foi selecionado e avaliado em casa de vegetação, sob inoculação artificial. A partir dos dados da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), com base em três avaliações de severidade dos sintomas, foi realizada análise de variância seguida do agrupamento de médias. Em condições de campo, as linhagens apresentaram alta variabilidade fenotípica para a incidência e severidade da MHM, possibilitando selecionar linhagens com maior potencial para resistência. Em casa de vegetação, quanto a AACPD, o teste de médias permitiu a formação de cinco grupos, sendo o com maior resistência composto por 23 linhagens. Esse grupo reuniu linhagens com resistência à MHM, potencial para rendimento de grãos e capacidade de expansão, além de linhagens que se destacaram com bom desempenho como genitores em pesquisas anteriores. Dentre o total de linhagens avaliadas, 12% (23 linhagens) foram indicadas como fonte de resistência à MHM.

Palavras-chave: melhoramento de plantas; *Bipolaris maydis*; *Zea mays* L.

Abstract

Southern corn leaf blight (SCLB), caused by *Bipolaris maydis*, is an important foliar disease of popcorn. The use of resistant genotypes is the most recommended control option for this disease; however, sources of resistance for use in breeding programs are restricted in popcorn germplasm. In this research, the objective was to identify new sources of resistance in a panel of inbred popcorn lines. A total of 184 lines were evaluated in the field at two times of the year for the incidence and severity of SCLB symptoms. From joint analysis of variance and grouping of means, a set of candidate lines for sources of resistance (CLSR) was selected and evaluated in a greenhouse, under artificial inoculation. From the data on the area under the disease progress curve (AUDPC), based on three assessments of symptom severity, analysis of variance was performed followed by grouping of means. Under field conditions, the lines showed high phenotypic variability for the incidence and severity of SCLB, making it possible to select lines with greater potential for resistance. In a greenhouse, regarding AUDPC, the average test allowed the formation of five groups, with the one with the greatest resistance consisting of 23 lines. This group brought together lines with resistance to SCLB, potential for grain yield and expansion capacity, in addition to lines that stood out with good performance as parents in previous research. Among the total lines evaluated, 12% (23 lines) were indicated as a source of resistance to SCLB.

Keywords: plant breeding; *Bipolaris maydis*; *Zea mays* L.

Introdução

A cultura do milho-pipoca tem expressividade na agricultura de diversos países, entre os quais, vem se destacando o Brasil. A opção de cultivo desta espécie agrícola é vantajosa uma vez que o milho-pipoca possui alta demanda e agrega valor em diferentes setores do comércio (Amaral Júnior et al., 2013; Paraginski et al., 2016).

Uma das limitações da cultura do milho-pipoca em países de clima tropical é a ocorrência de doenças foliares, entre as quais se destaca a mancha de helmintosporiose maidis (MHM) como um importante problema biótico (Aregbesola et al., 2020; Kurosawa et al., 2018). Historicamente, esta doença foi responsável por uma grande epidemia nos Estados Unidos da América em 1970, causando prejuízos da ordem de US\$ 1 bilhão somente em um ano na cultura do milho (Manamgoda et al., 2011). Atualmente, a MHM é responsável por causar prejuízos em diversos países no mundo onde o cereal é cultivado (Aregbesola et al., 2020).

A MHM é causada pelo fungo *Bipolaris maydis* (teleomorfo = *Cochliobolus heterostrophus*), necrotrófico, filamentosos e pertencente ao filo Ascomycota. O fungo possui três raças fisiológicas, a saber: “T”, “C” e “O”. Naturalmente, a raça “O” ocorre em maior frequência, uma vez que as outras duas são específicas aos genótipos portadores dos genes “T” e “C” de macho-esterilidade, respectivamente (Wang et al., 2017).

A doença se desenvolve bem em condições de clima tropical, com temperaturas ótimas para a infecção entre 22°C e 30°C associadas à alta umidade relativa do ar (Martinez et al., 2010). Perdas em rendimento de grãos, em torno de 50% e 70% da produção, foram associadas a esta doença. As perdas na produção são em decorrência da redução da área foliar fotossintética ativa, ocasionada pela morte do tecido vegetal infectado pelo fungo (Ali e Yan, 2012; Hussain et al., 2016; Nihei e Ferreira, 2012).

Dentre as formas de controle de doenças, o controle genético representa um dos métodos mais eficientes por não onerar diretamente os custos para os produtores, e por questões ambientais, pela possibilidade de redução de uso de agrotóxicos. Além disso, não existem

agrotóxicos específicos para essa doença registrados no Brasil (MAPA, 2023).

Alguns estudos demonstraram que o fungo apresenta variabilidade genética entre isolados, o que reflete na sensibilidade aos principais princípios ativos utilizados no controle químico e na patogenicidade do fungo ao milho (Nadeem et al., 2024; Zhang et al., 2011), que pode resultar na capacidade de evoluir e superar a resistência genética de seu hospedeiro. Assim, se faz necessária a constante identificação de novas fontes de resistência. Para o milho-pipoca, novas fontes de resistência às doenças são ainda mais importantes, uma vez que, a cultura é mais suscetível às pragas e doenças do milho e estudos buscando identificar fontes de resistência à MHM em milho-pipoca são restritos (Nadeem et al., 2024; Wang et al., 2017).

Neste cenário, a avaliação de coleções de germoplasmas são estratégias fundamentais para a identificação de materiais genéticos com resistência às doenças. Portanto, o presente trabalho foi desenvolvido sob a hipótese de que linhagens de milho-pipoca com diferentes origens geográficas apresentam variabilidade genética para a resistência à MHM, podendo essas serem identificadas e exploradas. Deste modo, o objetivo foi avaliar a performance de diferentes linhagens de milho-pipoca quanto à resistência à MHM e selecionar fontes de resistência genética.

Material e métodos

Avaliação e seleção em condições de infecção natural

O germoplasma avaliado foi composto por um painel de 184 linhagens endogâmicas (na sétima geração de autofecundação) de milho-pipoca, pertencentes à coleção de germoplasma de milho-pipoca da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF. As linhagens foram obtidas de 25 genealogias diferentes, entre as quais, constam populações adaptadas ao clima tropical e temperado, com origem em diferentes países como: Uruguai, Paraguai, Chile, Colômbia, Bolívia, Argentina, EUA e Brasil (Figura 1).

As linhagens (doravante denominadas de genótipos) foram avaliadas em duas épocas,

sendo época 1 (maio a setembro) e época 2 (outubro a fevereiro). Os experimentos foram realizados entre os anos de 2019 a 2021, na área experimental do Colégio Estadual Agrícola Antônio Sarlo, em Campos dos Goytacazes, situado na Região Norte do estado do Rio de Janeiro, na latitude 21° 45' S, longitude 41° 20' O e altitude de 11 m. No período em que os experimentos foram realizados, a temperatura média diária foi de 22°C com variações entre 16°C a 26,5°C na época 1 e 24,9°C com variações entre 15,7°C a 39,1°C na época 2. A umidade relativa do ar variou entre 21% a 94% com média de 76% na época 1 e 25% a 94% com média de 76% na época 2. A pluviosidade total em cada período foi de 443,2 mm na época 1 e 656,4 mm na época 2. Os dados meteorológicos foram fornecidos pelo Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) registrados na estação automática de Campos dos Goytacazes-RJ, cerca de 200 m distante da área experimental (INMET, 2021).

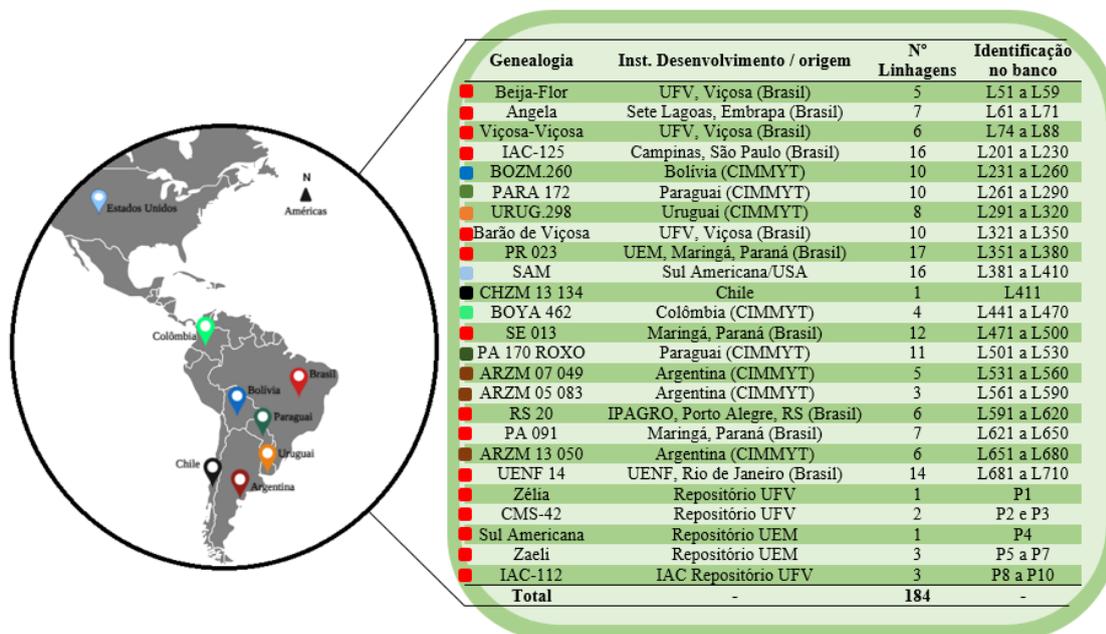


Figura 1: Origem geográfica das genealogias, descrição genética e identificação das linhagens avaliadas.

Devido ao elevado número de genótipos, estes foram avaliados em cinco ensaios em

cada época de avaliação. Cada ensaio recebeu um determinado número de genótipos, denominados tratamentos regulares, e mais três genótipos denominados tratamentos comuns. Os ensaios foram conduzidos em delineamento de blocos ao acaso com três repetições. Os tratamentos regulares foram constituídos por genótipos diferentes, enquanto os tratamentos comuns se repetiam entre os cinco ensaios. O conjunto contendo os cinco ensaios foram avaliados nas duas épocas.

Em ambas as épocas de avaliação, a área de semeio foi preparada com gradagem, sulcagem e adubação de plantio, onde foi aplicado 80 g do formulado N-P-K (04-14-08) por metro linear de sulco.

Cada unidade experimental foi constituída por uma fileira de 3 m de comprimento com 15 plantas, com espaçamento de 0,90 m entre fileiras e 0,2 m entre plantas. A semeadura foi realizada depositando três sementes a cada 0,2 m dentro do sulco e, posteriormente, aos 20 dias após o semeio, realizou-se o desbaste das plantas respeitando-se a densidade de cinco plantas por metro linear.

Todos os ensaios foram irrigados por aspersão em dias alternados nos períodos de estiagem. Aos 20 e 40 dias após o semeio foram realizadas aplicações de 20 g de ureia por metro linear. O controle de plantas invasoras foi realizado duas vezes ao longo do ciclo da cultura por meio de capina mecânica. O controle de lagartas se deu por meio de pulverizações com inseticidas químicos recomendados para a cultura.

As avaliações dos genótipos quanto à resistência à MHM foram realizadas aos 30 dias após o florescimento das plantas, estimando-se a incidência média e severidade média dos sintomas em quatro plantas alternadas dentro de cada unidade experimental, desconsiderando as quatro plantas iniciais e finais de cada unidade experimental. A avaliação de incidência foi realizada com base no número de folhas com sintomas em relação ao número de folhas totais da planta, expressa em porcentagem. A severidade foi estimada visualmente com auxílio da escala diagramática proposta por James (1971), sendo o intervalo de severidade dos sintomas expressos

pela escala: 0%; 1%; 5%; 25% e 50% de área foliar lesionada. A severidade da doença foi avaliada na folha anexa à primeira espiga de cada planta.

Foram realizadas análises de variância individuais para incidência e severidade, para cada ensaio, em cada época. Posteriormente, os dados de cada unidade experimental foram corrigidos pela multiplicação de um fator estimado pelo efeito de ensaios com base nos tratamentos comuns, a fim de eliminar os efeitos ambientais entre ensaios. Para isso, foi estimada a média dos tratamentos comuns para cada ensaio (MTCE) e a média geral dos tratamentos comuns em todos os ensaios (MGTC). Pela relação MGTC/MTCE foram obtidos os fatores de correção de acordo com a metodologia empregada por Ribeiro et al. (2009). Este procedimento foi realizado de forma separada para cada época de avaliação.

Os dados corrigidos foram submetidos ao teste de Anscombe e Tukey para homogeneidade de variâncias e ao teste de Shapiro-Wilk para normalidade dos resíduos. A variável severidade foi transformada em raiz quadrada para atender aos pressupostos da análise de variância, que foi realizada utilizando o modelo de análise conjunta em blocos casualizados considerando as duas épocas de avaliação.

Quando identificada diferença significativa pelo teste F, foi aplicado o teste de agrupamento de médias Scott-Knott a 5% de probabilidade. Adicionalmente, foram construídos gráficos boxplot para as variáveis incidência e severidade, apresentando a dispersão das médias das linhagens em função dos grupos formados pelo teste de médias.

Os genótipos alocados nos grupos de maior resistência para cada variável, em cada época, foram selecionados para a confirmação dos sintomas e afirmação da resistência, em casa de vegetação, com inoculação do fungo. Já os genótipos que apresentaram maior suscetibilidade a campo, foram desconsiderados como potencial para fonte de resistência à MHM.

Avaliação e seleção com inoculação em casa de vegetação

O experimento foi realizado no período entre agosto e outubro de 2021, em casa de

vegetação na Unidade de Apoio à Pesquisa (UAP), da UENF, em Campos dos Goytacazes - RJ. A casa de vegetação utilizada possui laterais protegidas com tela antiafídeo e teto coberto com plástico transparente e telado preto do tipo sombrite com 50% de sombreamento. A temperatura e umidade relativa do ar, no ambiente interno da casa de vegetação, expressaram valores diários entre 20,8°C a 29,6°C com média de 25,1°C para a temperatura e de 69,9% a 98,7% com média de 84,5% para a umidade relativa do ar.

Foram avaliados 98 genótipos selecionados na avaliação realizada a campo. Destes, 93 sendo linhagens candidatas às fontes de resistência (LCFR) e cinco linhagens suscetíveis à MHM como testemunhas. O delineamento utilizado foi o de blocos ao acaso com quatro repetições. Para o cultivo das plantas foram utilizados vasos plásticos preenchidos com 5 litros de substrato composto por uma mistura de solo, areia e esterco bovino, na proporção de 3:1:1. No momento do semeio foram dispostas quatro sementes por vaso a 2 cm de profundidade e, vinte dias após o semeio, foi realizado um desbaste deixando apenas duas plantas em cada vaso, compondo assim uma unidade experimental.

Para a inoculação, o isolado “CF/UENF 501” do fungo *B. maydis*, coletado no município de Campos dos Goytacazes - RJ, isolado a partir de lesão típica em folha de milho-pipoca, caracterizado quanto a sua morfologia e patogenicidade em genótipos de milho-pipoca (Ferreira et al., 2024), foi replicado para placas de Petri contendo meio de cultivo BDA- Batata dextrose e ágar. As placas foram mantidas em bancada com temperatura de 25°C por 15 dias sob fotoperíodo de 12 horas. Após esse período foi preparada uma suspensão de conídios adicionando-se 30 ml de água destilada em cada placa seguida por uma raspagem superficial com auxílio de um pincel. A suspensão obtida em cada placa foi reunida e ajustada para a concentração de 1×10^4 conídios.ml⁻¹, com 91% dos conídios viáveis após 12 h.

A inoculação foi realizada aos 30 dias após a emergência das plântulas, período em que apresentavam entre cinco e seis folhas totalmente expandidas. Com o auxílio de um pulverizador manual foram pulverizados 5 a 6 ml da suspensão em cada planta. Após a inoculação, as plantas

foram cobertas com uma lona plástica transparente, sustentada a 20 cm acima das plantas por uma estrutura de madeira, por um período de 48 h a fim de simular uma câmara úmida e manter condições ideais de umidade e temperatura para a infecção. A temperatura interna da câmara, nesse período, oscilou entre 22,2 °C e 29,3 °C, e a umidade relativa do ar entre 70% e 100%.

As avaliações tiveram início sete dias após a inoculação, sendo realizadas três avaliações com intervalos de cinco dias entre elas. Em cada uma, determinou-se a severidade dos sintomas na sexta folha expandida de cada planta, de forma visual e com auxílio da escala diagramática proposta por James (1971). Os dados obtidos permitiram calcular a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), por meio da equação proposta por Campbell e Madden (1990).

A variável AACPD foi submetida ao teste de Anscombe e Tukey para homogeneidade de variâncias e ao teste de Shapiro-Wilk para normalidade dos resíduos. Após a transformação em raiz quadrada, para atender aos pressupostos da análise, foi realizada a análise de variância seguindo o modelo de blocos casualizados com testemunhas adicionais. As médias dos tratamentos foram agrupados pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Adicionalmente, a média de cada tratamento foi comparada à média das testemunhas pelo teste “t” de student a 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa estatístico R, com auxílio do pacote.

Resultados

Avaliação e seleção em condições de infecção natural

Foi identificado efeito significativo para incidência e severidade dos sintomas da MHM para genótipos, ambientes e interação genótipo x ambiente ($P < 0,01$), apontando diferença estatística significativa entre as médias das variáveis estimadas nas linhagens e resposta diferente de genótipos em função das épocas de avaliação. A variável severidade apresentou maior coeficiente de variação (25,91%), em comparação com a incidência (11,47%) (tabela 1).

Foram observados valores de incidência variando de 13% a 100% com média de 72% para época 1 e 5,8% a 100% com média de 69,5% para a época 2. Já para a severidade, foram observados valores variando de 0,02% a 48,45% com média de 7,78% na época 1 e 0% a 60,4% com média de 6,02% na época 2 (Figuras 2 e 3).

Tabela 1: Resumo da análise de variância conjunta para incidência e severidade da mancha de helmintosporiose maidis (MHM) em linhagens de milho-pipoca avaliadas a campo.

Fonte de variação	Quadrados médios		
	Gl	Incidência	Severidade
Bloco/Ambiente	4	214,70	1,01
Genótipos	183	2084,181**	11,48**
Ambientes	1	2863,10*	39,24**
Genótipo x Ambiente	183	332,78**	2,28**
Erro	732	66,63	0,2958
Média	-	71,15	2,11
cv (%)	-	11,47	25,91

Gl – Graus de liberdade; ** - Significativo a 1% pelo teste F; cv (%) -

Coefficiente de variação experimental em porcentagem

Quanto ao agrupamento das linhagens para a variável incidência (Figura 2), foi observada a distribuição das linhagens em cinco grupos na época 1 (a - e) e seis grupos na época 2 (a - f). O número de linhagens e a média de incidência em cada grupo na época 1 foram: grupo “a” com 56 linhagens e incidência média de 94,41%, grupo “b” com 47 linhagens e 79,03%, grupo “c” com 49 linhagens e média de 62,31%, grupo “d” com 22 linhagens e média de 45,88%, e grupo “e” com 9 linhagens e média de 27,3% de incidência (Figura 2). Para a avaliação de incidência na época 2, a distribuição das linhagens nos grupos foram: grupo “a” com 26 linhagens e média de incidência de 97,2%, grupo “b” com 57 linhagens e média de 81,9%, grupo

“c” com 33 linhagens e média de 64,9%, grupo “d” com 45 linhagens e média de 54,7%, grupo “e” com 15 linhagens e média de 35,6%, e grupo “f” com 8 linhagens e média de incidência de 16,3%. A maior frequência de linhagens se deu nos grupos com maiores médias para incidência (Figura 2).

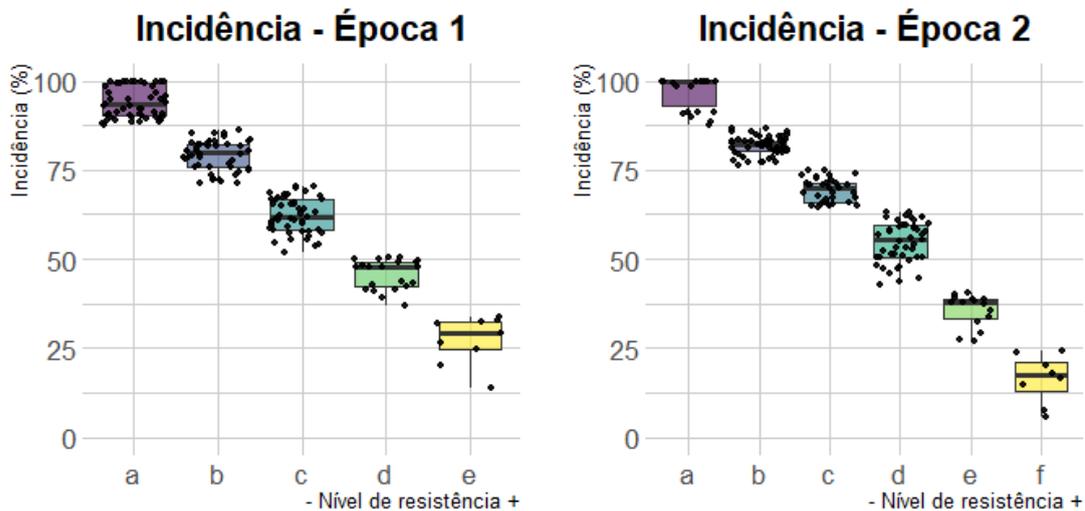


Figura 2: Dispersão das médias das linhagens quanto à incidência de MHM em cada grupo formado pelo algoritmo de Scott-Knott (As diferentes letras indicam os grupos formados pelo algoritmo) a 5% de probabilidade em cada época de avaliação.

Para a severidade (Figura 3) observou-se a formação de nove diferentes grupos em cada época de avaliação (a – i). O número de linhagens e média de severidade nos respectivos grupos foram: para a avaliação realizada na época 1, grupo “a” com uma linhagem que apresentou média de 59,5%; grupo “b” com cinco linhagens e média de 45%; grupo “c” com 22 linhagens e média 33,2%; grupo “d” com 13 linhagens e média de 21%; grupo “e” com 14 linhagens e média de 12,9%; grupo “f” com 25 linhagens e média de 5,07%; grupo “g” com 31 linhagens com média de 2,68%; grupo “h” com 28 linhagens e média de 1,08%; grupo “i” com 45 linhagens com média de 0,2% de severidade foliar.

Para a avaliação realizada na época 2: grupo “a” com duas linhagens com média de

48,5%; grupo “b” com uma linhagem e média de 30,6%; grupo “c” com duas linhagens e média 23,8%; grupo “d” com 15 linhagens e média de 16,8%; grupo “e” com 18 linhagens e média de 11,3%; grupo “f” com 33 linhagens e média de 6,79%; grupo “g” com 48 linhagens e média de 3,65%; grupo “h” com 35 linhagens e média de 1,69%; grupo “i” com 30 linhagens e média de 0,44% de severidade foliar. Os grupos que apresentaram menores valores para as médias de severidade reuniram maiores números de linhagens (Figura 3).

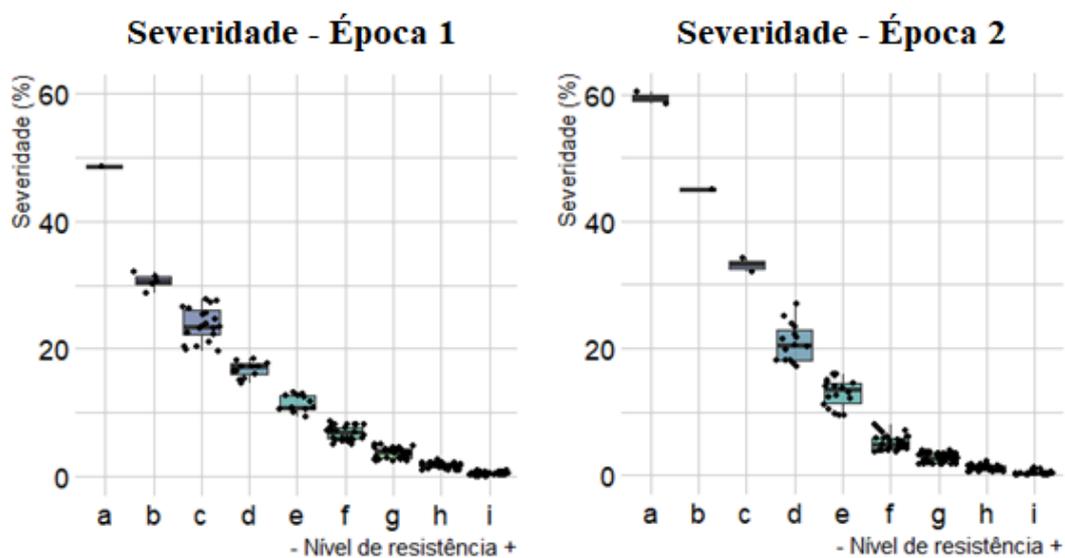


Figura 3: Dispersão das médias das linhagens quanto à severidade de MHM em cada grupo formado pelo algoritmo de Scott-Knott (As diferentes letras indicam os grupos formados pelo algoritmo) a 5% de probabilidade em cada época de avaliação.

Os diferentes grupos formados pelo algoritmo de Scott-Knott representam os diferentes níveis de resistência das linhagens avaliadas. Os grupos com as menores médias expressaram maiores níveis de resistência e, dessa forma, para a incidência dos sintomas foram selecionadas 31 linhagens agrupadas nos grupos “d” e “e” na época 1, e 23 linhagens agrupadas nos grupos “e” e “f” na época 2 (Figura 4). Entre as selecionadas com menores médias, 16 (42%) linhagens são comuns nas duas épocas. Para a severidade, foram selecionadas 73 linhagens agrupadas nos grupos “h” e “i” na época 1, e 65 linhagens nos grupos “h” e “i” na época 2, 42 (43,7%) linhagens

linhagens no grupo “C”, 44 linhagens no grupo “D” e 23 linhagens no grupo “E”. As linhagens L512 do grupo “A”, L507 do grupo “B”, L365, L509, L55, L694, L88 e P5 do grupo “C” apresentaram média para AACPD estatisticamente igual à média das testemunhas suscetíveis, pelo teste “t” (Figura 6). As 23 linhagens que formaram o grupo “E” apresentaram as menores médias para AACPD e foram selecionadas como fontes de resistência à MHM (Figura 6).

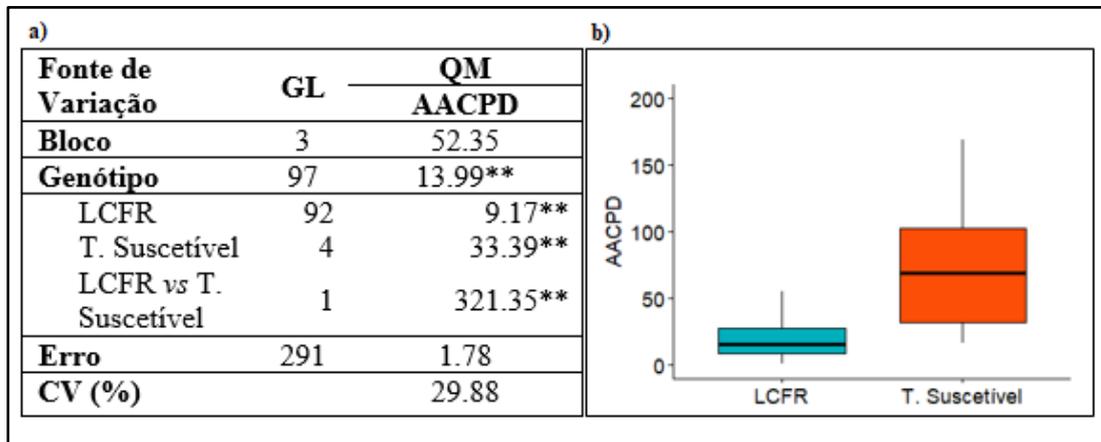


Figura 5: a) Resumo da análise de variância para a AACPD; b) Comparação entre os grupos de linhagens candidatas às fontes de resistência – LCFR e linhagens testemunhas suscetíveis - T. Suscetíveis. FV – Fonte de variação; QM – Quadrado Médio; ** - Significativo a 1%; Cv (%) - Coeficiente de variação experimental em porcentagem.

apresentam a capacidade de expansão média de 21,5 ml.g⁻¹ e a produtividade média foi de 1100 kg.ha⁻¹ (Figura 8; Banco de Dados do Laboratório).

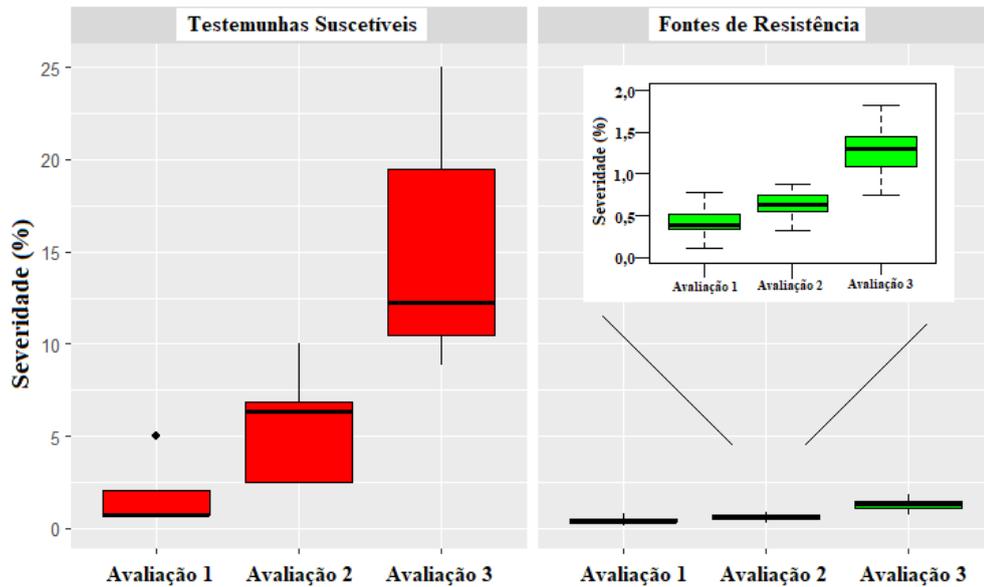


Figura 7: Distribuição das médias de severidade para as testemunhas suscetíveis e para as 23 linhagens selecionadas para fontes de resistência à MHM, em cada avaliação.

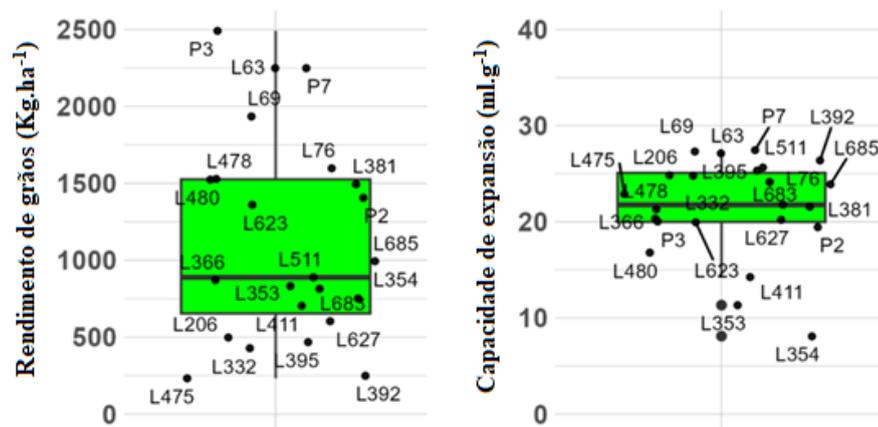


Figura 8: Distribuição das médias de rendimento de grãos e para a capacidade de expansão para as 23 linhagens selecionadas para fontes de resistência à MHM obtidos nas avaliações de campo (Fonte: Banco de Dados do Laboratório, dados não publicados).

Discussão

A identificação de novas fontes de resistência para a mancha de helmintosporiose maidis (MHM) é importante, uma vez que são restritas em germoplasmas de milho-pipoca. Poucos trabalhos foram publicados com esse objetivo e, em sua maioria, foram realizados em condições de infecção natural a campo (Bhandari et al., 2017; Kurosawa et al., 2018). Nesta pesquisa, objetivou-se identificar fontes de resistência à MHM em um conjunto de 184 linhagens endogâmicas. As linhagens passaram por avaliação em duas estações de cultivo a campo, onde foi possível selecionar as linhagens candidatas à fonte de resistência (LCFR) que, posteriormente, foram avaliadas em casa de vegetação com inoculação artificial do patógeno, possibilitando a identificação de fontes de resistência genética à MHM e reduzindo as chances de selecionar falsos resistentes, em razão dos escapes que podem ocorrer nas condições de avaliação a campo.

As condições experimentais a campo permitiram a expressão de ampla variabilidade fenotípica entre as linhagens para a resistência à MHM, que pode ser evidenciada pelos efeitos significativos do teste F nas variáveis incidência e severidade para as fontes de variação genótipos e suas interações com as épocas de avaliação, e pelos diferentes grupos formados pelo teste de Scott- Knott em cada época, o que evidencia diferenças substanciais para a resistência à MHM entre as linhagens.

A variabilidade fenotípica pode ser atribuída às diferenças genéticas das genealogias que deram origem às linhagens aqui avaliadas, entre as quais, constam populações de milho-pipoca obtidas a partir de cultivares comerciais que passaram por processos de melhoramento, como as genealogias IAC-125, IAC-12, Zelia, Zaeli, SAM, Ângela, Viçosa, Barão de Viçosa, Beija-flor, UENF-14, RS-20 e as demais genealogias obtidas de compostos de milho-pipoca oriundos de países como Uruguai, Paraguai, Chile, Colômbia, Bolívia e Argentina (Figura 1). Algumas dessas genealogias, como as relatadas por Kurosawa et al. (2018), apresentam variabilidade para a resistência às doenças foliares, entre elas a MHM, corroborando esse

resultado. Saluci et al. (2020) também verificaram variabilidade para a resistência em linhagens parcialmente endogâmicas, o que explica em parte, a variabilidade encontrada entre as linhagens nesta pesquisa.

Embora a avaliação a campo, com infecção natural do patógeno, possibilite a seleção de falsos resistentes por escape, este método pode ser utilizado para reduzir o número de genótipos para avaliação em ambiente controlado. Os resultados observados sob condição natural de infecção permitiram reduzir o número de linhagens candidatas às fontes de resistência (LCFR) para 52,7% do total inicial, desconsiderando aquelas que apresentaram maiores níveis de suscetibilidade a campo.

Os resultados confirmaram que a presente metodologia pode ser utilizada nesse patossistema, conforme já empregado em outros, como feijão-mungu (*Vigna radiata* L.) vs vírus do mosaico amarelo (Nagaraj et al., 2019), pepino (*Cucumis sativus* L.) vs oídio (Sharma et al., 2022) e pimenta malagueta (*Capsicum* spp.) vs *begomovirus* (Srivastava et al., 2017).

As condições climáticas durante as épocas de avaliação a campo foram próximas àquelas relatadas por Martinez et al. (2010), consideradas adequadas para a ocorrência da MHM onde temperaturas ótimas, então compreendidas entre 22°C e 30°C, associadas à alta umidade relativa do ar, favorece a ocorrência da doença permitindo identificar os diferentes níveis de resistência e selecionar as linhagens mais promissoras para fontes de resistência genética.

A partir das avaliações realizadas a campo, foram selecionadas 97 LCFR. Percebeu-se que 97,3% das linhagens selecionadas por apresentarem baixa incidência também foram selecionadas para severidade, o que permite dizer que em condições de campo a avaliação e a seleção podem ser realizadas apenas com base na severidade. Fortes correlações fenotípicas e genotípicas entre essas duas variáveis, para MHM em milho-pipoca, sustentam essa possibilidade (Kurosawa et al., 2018; Santos et al., 2020a).

Em condições de casa de vegetação verificou-se efeito significativo para a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD). Notou-se que, mesmo com seleção prévia, as

linhagens expressaram diferentes níveis de resistência, onde foi possível distinguir entre as LCFR selecionadas a campo, linhagens com maior nível de resistência e eventuais linhagens selecionadas por escape. Para essa avaliação, as 23 linhagens que formaram o grupo “E” pelo teste de Scott- Knott expressaram os maiores níveis de resistência com severidade média na terceira avaliação de 1,3% e AACPD média de 8, portanto, estas foram consideradas fontes de resistência genética à MHM.

Cabe ressaltar que entre as linhagens selecionadas para fonte de resistência neste estudo, encontram-se linhagens avaliadas em outras pesquisas. As linhagens L353 e L354 demonstraram resistência significativa no trabalho desenvolvido por Ferreira et al. (2022) em condições similares às realizadas neste estudo. As linhagens L76, L69, P7 e P3 se destacaram quanto à resistência à MHM na pesquisa de Amaral Júnior et al. (2019) em condições de campo em ambientes com alteração da disponibilidade de fósforo. Santos et al. (2020b) relataram potencial de ganho de resistência para MHM utilizando a linhagem L76 como parental em híbridos simples. Em paralelo, as linhagens L653 e L80, aqui utilizadas como testemunhas suscetíveis, também apresentaram alta suscetibilidade ao *B. maydis* nas pesquisas realizadas por Amaral Júnior et al. (2019), Ferreira et al. (2022) e Kurosawa et al. (2018). Esses resultados implicam em maior confiabilidade para essas fontes de resistência selecionadas, uma vez que apresentaram alto nível de resistência em diferentes condições de avaliação e em diferentes pesquisas.

Um importante ponto a ser observado, para o grupo de linhagens selecionadas para fonte de resistência à MHM, é o seu desempenho quanto ao rendimento de grãos e capacidade de expansão, variáveis de elevada importância para a cultura. Notaram-se médias satisfatórias quanto a essas variáveis para algumas das fontes de resistência selecionadas, com destaque para as linhagens P3, L63 e L69, com médias acima de 2000 kg. ha⁻¹. E para a capacidade de expansão, as linhagens P3, L69, L63, L392, L511 e L395, com médias acima de 25ml.g⁻¹. Tais observações são importantes, pois é desejável pelos melhoristas que fontes de resistência às

doenças possam potencial agronômico, implicando que essas fontes de resistência selecionadas nesta pesquisa possam potencial de utilização direta nos programas de melhoramento de milho-pipoca.

Conclusões

Foi identificada variabilidade para a resistência à MHM dentre o germoplasma de milho-pipoca avaliado, permitindo selecionar fontes de resistência genética.

Os resultados a campo permitiram reduzir o número inicial de genótipos a serem avaliados no ambiente controlado sob inoculação artificial.

Do total avaliado, 23 linhagens (12,5%) foram identificadas com maior nível de resistência e, portanto, selecionadas para serem fontes de resistência à MHM.

Dentre os materiais selecionados, há materiais com boas características para produtividade e capacidade de expansão dos grãos.

Referências

- Ali, F., Yan, J. (2012) Disease resistance in maize and the role of molecular breeding in defending against global threat. *Journal of Integrative Plant Biology*, 54:134-151.
- Amaral Júnior, A.T., Gonçalves, L.S.A., Freitas Júnior, S.P., Candido, L.S., Vittorazzi, C., Pena, G.F. et al. (2013) UENF-14: A new popcorn cultivar. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 13:218-220.
- Amaral Júnior, A.T., Poltronieri, T.P.S., Santos, P.H.D., Vivas, M., Gerhardt, I.F.S., Carvalho, B.M. et al. (2019) Reaction of popcorn lines (*s₇*) cultivated in distinct phosphorus levels to *Bipolaris maydis* infection. *Summa Phytopathologica*, 45:18-22.

- Aregbesola, E., Ortega-Beltran, A., Falade, T., Jonathan, G., Hearne, S., Bandyopadhyay, R. (2020) A detached leaf assay to rapidly screen for resistance of maize to *Bipolaris maydis*, the causal agent of southern corn leaf blight. *Eur. J. Plant Pathol.*, 156, 133-145.
- Bhandari, R.R., Aryal, L., Sharma, S., Acharya, M., Pokhrel, A., Apar, G.C. et al. (2017) Screening of maize genotypes against southern leaf blight (*Bipolaris maydis*) during summer season in Nepal. *World Journal of Agricultural Research*, 5:31–41.
- Campbell, C.L. & Madden, L.V. (1990) *Introduction to Plant Disease Epidemiology*. New York, NY: John Wiley & Sons.
- Ferreira, C.M., Saluci, J.C.G., Vivas, M., Santos, J.S., Andrade, Júnior, M.S., Vivas, J.M. et al. (2024) Characterization of the *Bipolaris maydis*: symptoms and pathogenicity in popcorn genotypes (*Zea mays* L.). *Brazilian Journal of Biology*, 84:1-7. [Preprint] Available at: <https://doi.org/10.1590/1519-6984.256799>. [Accessed 09April 2022].
- Hussain, H., Raziq, F., Khan, I., Shah, B., Altaf, M., Attaullah Ullah, W. et al. (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. (2021) Brasil. Dados da Estação Meteorológica A607 – Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro. <https://mapas.inmet.gov.br/>.
- James, W.C. (1971) *A manual of assessment keys for plants diseases*. American Phytopathological Society, St. Paul.

- Kurosawa, R.N.F., Vivas, M., Amaral Junior, A.T., Ribeiro, R.M., Miranda, S.B., Pena, G.F. et al. (2018) Popcorn germplasm resistance to fungal diseases caused by *Exserohilum turcicum* and *Bipolaris maydis*. *Bragantia*, 77:36-47.
- Manamgoda, D.S., Cai, L., Bahkali, A.H., Chukeatirote, E., Hyde, K.D. (2011) *Cochliobolus*: an overview and current status of species. *Fungal Divers*, 51:3–42.
- MAPA - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Consulta de Produtos Formulados. Disponível em: <https://agrofit.agricultura.gov.br/> . Acesso em: 7 mar. 2023.
- Martinez, A., Franzener, G., Stangarlin, J.R. (2010) Damages caused by *Bipolaris maydis* in *Panicum maximum* cv. Tanzânia. *Semina: Ciências Agrárias*, 31:863-870.
- Nadeem, A., Hussain, S., Fareed, A., Fahim, M. Iqbal, T., Ahmad, Z. (2024) Genetic variations among the isolates of *Bipolaris maydis* based on phenotypic and molecular markers. *Brazilian Journal of Biology*, 84:1-11. [Preprint] Available at: <https://doi.org/10.1590/1519-6984.253147>. [Accessed 09 April 2022].
- Nagaraj, Basavaraj, S., Padmaja, A.S., Nagaraju, N., Ramesh, S. (2019) Identification of stable sources of resistance to mungbean yellow mosaic virus (MYMV) disease in mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek]. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization*, 17:362–370.
- Nihei, T.H., Ferreira, J.M. (2012) Análise dialélica de linhagens de milho com ênfase na resistência a doenças foliares. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 47:369-377.

- Paraginski, R.T., Souza, N.L., Alves, G.H., Ziegler, V., Oliveira, M., Elias, M.C. (2016) Sensory and nutritional evaluation of popcorn kernels with yellow, white and red pericarps expanded in different ways. *Journal of Cereal Science*, 69:383-391.
- Ribeiro, E.H., Pereira, M.G., Coelho, K. DE S. & Freitas Júnior, S. DE P. (2009) Estimates of genetic parameters and selection of recombined inbred lines of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista Ceres*, 56:580-590.
- Saluci, J.C.G., Vivas, M., Almeida, R.N., Dutra, I.P., Carlos, M.C., Amaral Junior, A.T. et al. (2020) Potential of popcorn S₄ lines for resistance to southern corn leaf blight. *Functional Plant Breeding Journal*, 2:79-87.
- Santos, J.S., Vivas, M., Souza, Y.P., Amaral Junior, A.T., Almeida, R.N., Saluci, J.C.G. et al. (2020a) Resistance of popcorn hybrid (*Zea mays*) to multiple diseases and correlation between leaf disease intensity and agronomic traits. *Australian Journal of Crop Cience*, 11:1800-1809.
- Santos, J.S., Souza, Y.P., Vivas, M., Amaral Junior, A.T., Almeida Filho, J.E., Mafra, G.S. et al. (2020b) Genetic merit of popcorn lines and hybrids for multiple foliar diseases and agronomic properties. *Functional Plant Breeding Journal*, 2:33-47.
- Sharma, S., Dar, A., Gupta, S., Singh, R. (2022) Evaluation of resistant genotypes and their characterization using molecular markers linked for powdery mildew resistance in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization*, 1:1-6.

Srivastava, A., Mangal, M, Saritha, R.K., Kalia, P. (2017) Screening of chilli pepper (*Capsicum* spp.) lines for resistance to the begomoviruses causing chilli leaf curl disease in India. *Crop Protection*, 100:177–185.

Wang, M., Wang, S., Ma, J., Yu, C., Gao, J., Chen, J. (2017) Detection of *Cochliobolus heterostrophus* races in South China. *Journal of Phytopathology*, 165:681-691.

Zhang, L.X., Zhang, J., Wang, J.H., Tan, G.J. (2011) Sensitivity of *Bipolaris maydis* to five fungicides in Anhui Province. *Plant Protection*, 37:163–166.

ANÁLISE GENÉTICA DA RESISTÊNCIA À MANCHA DE HELMINTOSPORIOSE MAIDIS EM MILHO-PIPOCA

Artigo a ser submetido à revista *Agronomy Journal*:

RESUMO

A mancha de helmintosporiose maidis (MHM) é uma importante doença foliar do milho-pipoca e sua principal forma de controle ocorre pela utilização de cultivares resistentes. Para desenvolver genótipos com resistência às doenças é importante o conhecimento da herança associada à resistência, visto que, parâmetros como a natureza e magnitude dos efeitos gênicos, são essenciais para delinear métodos e estratégias em um programa de melhoramento genético. À vista disso, a presente pesquisa foi realizada com o objetivo de estudar a genética associada à resistência à MHM em milho-pipoca. Duas linhagens endogâmicas contrastantes para a resistência à MHM foram selecionadas para o estudo, sendo: parental 1 (P_1) a linhagem L353 (resistente), e parental 2 (P_2) a linhagem L653 (suscetível). A partir do cruzamento entre L353 e L653 foi obtida a geração F_1 e, pela autofecundação da geração F_1 , foi obtida a geração F_2 . As gerações de retrocruzamento, RC_1 e RC_2 foram obtidas pelo cruzamento entre a geração F_1 e os respectivos parentais P_1 e P_2 . As gerações, P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , RC_1 , RC_2 , foram avaliadas, sob inoculação em casa de vegetação, quanto a severidade dos sintomas. A partir das avaliações de severidade, foi calculada a área abaixo da curva de progresso de doença (AACPD). As gerações P_1 e P_2 foram contrastantes quanto a reação à doença, apresentando médias de AACPD de 136,5 e 461,9, respectivamente. A geração F_1 apresentou média de 132,6, estatisticamente igual ao P_1 . As demais gerações apresentaram médias de 388,6, 372,7 e 554,0 correspondendo, respectivamente, a F_2 , RC_1 e RC_2 . A análise genética da resistência à MHM demonstrou efeitos aditivos e não aditivos relacionados à resistência, embora maior variância genética de dominância tenha sido observada. Efeitos de interação digênica do tipo dominante x dominante também foram observadas.

Dessa forma, a exploração dos efeitos de dominância deve ser utilizada nos programas de melhoramento e a hibridação poderá ser um método utilizado para a obtenção de cultivares resistentes à MHM em milho-pipoca

ABSTRACT

Southern corn leaf blight (SCLB) is an important foliar disease of popcorn, and its main form of control is through the use of resistant cultivars. To develop genotypes with disease resistance, it is important to know the inheritance associated with resistance, since parameters such as the nature and magnitude of gene effects are essential to outline methods and strategies in a genetic improvement program. In view of this, the present research was carried out with the objective of studying the genetics associated with resistance to SCLB in popcorn. Two contrasting inbred lines for resistance to SCLB were selected for the study, being: Parental 1 (P_1) the L353 (Resistant) line, and Parental 2 (P_2) the L653 (Susceptible) line. From the cross between L353 and L653 the F_1 generation was obtained, and by self-fertilization of the F_1 generation the F_2 generation was obtained. The backcross generations, RC_1 and RC_2 , were obtained by crossing the F_1 generation and the respective P_1 and P_2 parents. The generations, P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , RC_1 , RC_2 , were evaluated, under inoculation in a greenhouse, for the severity of symptoms. From the severity assessments, the area under the disease progress curve (AUDPC) was calculated. The P_1 and P_2 generations were contrasting in terms of reaction to the disease, presenting mean AUDPC of 136.5 and 461.9, respectively. The F_1 generation had an average of 132.6, statistically equal to P_1 . The other generations presented averages of 388.6, 372.7 and 554.0 corresponding, respectively, to F_2 , RC_1 and RC_2 . Genetic analysis of resistance to SCLB demonstrated additive and non-additive effects related to resistance, although greater genetic variance in dominance was observed. Dominant x dominant digenic interaction effects were also observed. Therefore, the

exploration of dominance effects should be used in breeding programs and hybridization could be a method used to obtain cultivars resistant to SCLB in popcorn.

1 INTRODUÇÃO

A mancha de helmintosporiose maidis (MHM) é uma importante doença foliar do milho, com ocorrência por todo mundo onde o cereal é cultivado. Geralmente causa maiores prejuízos em países de clima tropical, e tem sido relatada, principalmente, nos Estados Unidos, Europa, Índia, China e Brasil (Wei et al., 1988; Ullstrup, 1972; Kurosawa et al., 2020, Saluci et al., 2023). O poder de acometimento da MHM no milho é alto, podendo resultar em perdas expressivas uma vez que causa morte do tecido foliar, impactando diretamente na produtividade da cultura. Em condições controladas, verificou-se redução de até 40% da produtividade do milho em genótipos suscetíveis (Fisher et al., 1976; Byrnes et al., 1989).

Historicamente, a MHM foi responsável por prejuízos de aproximadamente US\$ 1 bilhão na década de 1970 nos EUA. Perdas severas também foram relatadas na China (Ullstrup, 1972; Pan et al., 2010; Ali et al., 2011; Singh et al., 2012). Estudos recentes apontaram estimativas de perda média anual de US\$ 47,25 por hectare entre os anos de 2012 e 2015, além de uma perda média anual de 11,2mil toneladas entre os anos de 2016 e 2019, nos Estados Unidos da América e em Ontário, no Canadá, devido à ocorrência da MHM (Mueller et al., 2016; Mueller et al., 2020).

A MHM é causada pelo fungo filamentosso, necrotrófico, *Bipolaris maydis* (teleomorfo = *Cochliobolus heterostrophus*) pertencente ao filo Ascomycota. O fungo possui três raças morfológicamente semelhantes, a saber: “T”, “O” e “C”. As raças “T” e “C” são patogênicas somente aos genótipos de milho com citoplasma macho-estéril “T” e “C”, respectivamente. Por outro lado, a raça “O” causa danos em qualquer tipo de genótipo (Costa et al., 2014).

Dentre as formas de controle de doenças em plantas, o uso de cultivares melhoradas, com resistência genética, deve ser sempre a mais indicada, que poderá ser utilizada de forma isolada ou em combinação com outras, como o controle por meio da utilização de defensivos químicos,

por exemplo (Poole e Arnaudin, 2014). Para a MHM, a resistência genética tem sido a principal forma de controle empregada.

Durante o processo de desenvolver variedades resistentes às doenças, é importante para o melhorista conhecer a respeito da herança, efeitos genéticos, natureza e magnitude da ação gênica que governa o mecanismo de resistência, a fim de empregar os melhores métodos e estratégias de melhoramento para se obter ganhos significativos de forma mais eficaz.

Para milho comum, o controle gênico da resistência à MHM é apresentado como de efeito poligênico (Holley e Goodman 1989), dois genes recessivos ligados (Craig e Fajemisin 1969, Thompson e Berquist 1982, Chang e Peterson 1995) ou um gene recessivo (Smith e Hooker, 1973), neste último caso, o gene confere resistência apenas nas fases antes do florescimento.

Estudos de QTLs têm identificado regiões importantes associadas à resistência à MHM (Martins et al., 2019). Regiões dos cromossomos 8, 9 e 10 foram associadas à resistência à MHM (Negeri et al., 2011) e cromossomos 3 e 9 (Balint-Kurti PJ et al., 2006). Relata-se ainda, a respeito da raça “O”, em milho comum e em milho-pipoca, sobre a ação gênica, efeitos aditivos e não aditivos associados ao controle genético da resistência (Burnette e White, 1985; Lim e Hooker, 1976; Kump et al., 2011; Kurosawa et al., 2020; Santos et al., 2019).

Algumas metodologias podem ser empregadas no estudo de herança de caracteres, contudo, a análise de médias de gerações é uma das mais indicadas para esse tipo de estudo (Hayman, 1958). Embora alguns avanços tenham sido alcançados sobre a resistência à MHM em milho-comum, pouco se sabe a respeito do milho-pipoca. Não foram encontradas na literatura nenhuma pesquisa buscando estudar a herança da resistência genética à MHM em germoplasma de milho-pipoca por meio da análise de médias de gerações. Portanto, a presente pesquisa foi realizada com o objetivo de estudar a herança, natureza e magnitude dos efeitos gênicos associados à resistência à MHM em milho-pipoca.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Duas linhagens endogâmicas de milho-pipoca, contrastantes quanto à resistência à MHM, foram selecionadas para realizar o estudo de herança seguindo o delineamento de análise de médias de gerações. As linhagens L353, obtida a partir da população de milho-pipoca PR-023, foi selecionada como parental resistente, e a linhagem L653, obtida a partir da população ARZM-13-050, foi selecionada como parental suscetível. As duas linhagens compõem a coleção de milho-pipoca da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, e foram caracterizadas quanto à resistência à MHM – ver capítulo 1 - (Ferreira et al., 2024).

A obtenção das gerações foi realizada em casa de vegetação, com o cultivo das plantas em vasos com capacidade de 25 litros preenchidos com substrato composto por solo, areia e esterco bovino, na proporção de 3:1:1. A geração F_1 foi obtida pelo cruzamento, realizado de forma manual, entre plantas da linhagem L353 (Pai_1 - parental feminino) e plantas da linhagem L653 (Pai_2 - parental masculino), durante os meses de agosto a dezembro de 2019. No ano seguinte, plantas das linhagens parentais e do híbrido F_1 , foram cultivadas para a obtenção das demais gerações. A geração F_2 foi obtida pela autofecundação de plantas F_1 ($F_1 \times F_1$). As gerações RC_1 e RC_2 foram obtidas pelo cruzamento entre plantas F_1 com plantas da linhagem L353 ($F_1 \times L353$) e L653 ($F_1 \times L653$), respectivamente. As seis gerações obtidas foram avaliadas em casa de vegetação, sob inoculação, durante os meses de abril a maio de 2021, na Unidade de Apoio à Pesquisa (UAP), da UENF, em Campos dos Goytacazes – RJ.

A casa de vegetação utilizada possuía laterais protegidas com tela antiafídeo e teto coberto com plástico transparente e telado preto do tipo sombrite com 50% de sombreamento. O ambiente do experimento expressou temperaturas diárias variando de 21,3°C a 29,6°C com média de 24,9°C, e umidade relativa do ar variando de 59,7% a 91,6% com média de 73,5%.

Para o cultivo das plantas foram utilizados vasos plásticos preenchidos com 5 litros de substrato composto por uma mistura de solo, areia e esterco bovino, na proporção de 3:1:1. No momento do semeio foram dispostas três sementes por vaso a 2 cm de profundidade e, vinte dias

após o semeio, foi realizado um desbaste deixando apenas duas plantas em cada vaso. Ao todo, foram avaliadas 21 plantas do Pai₁, 15 plantas do Pai₂, 26 plantas da geração F₁, 242 plantas da geração F₂, 117 plantas do RC₁ e 104 plantas RC₂.

Para a inoculação, o isolado “CF/UENF 501” do fungo *B. maydis*, coletado no município de Campos dos Goytacazes - RJ, isolado a partir de lesão típica de *B. maydis* em folha de milho-pipoca, caracterizado quanto a sua morfologia e patogenicidade em genótipos de milho-pipoca (Ferreira et al., 2024), foi replicado para placas de Petri contendo meio de cultivo BDA- Batata dextrose e ágar. As placas foram mantidas em bancada com temperatura de 25°C por 15 dias sob fotoperíodo de 12 horas. Após esse período foi preparada uma suspensão de conídios adicionando-se 30 ml de água destilada em cada placa seguida por uma raspagem superficial com auxílio de um pincel. A suspensão obtida em cada placa foi reunida e ajustada para a concentração de 1×10^4 conídios.ml⁻¹, com 90% dos conídios viáveis após 12h.

A inoculação foi realizada aos 28 dias após o semeio, período em que apresentavam entre seis e sete folhas totalmente expandidas. Com o auxílio de um pulverizador manual foram pulverizados de 7 a 8 ml da suspensão em cada planta. Após a inoculação, as plantas foram cobertas com uma lona plástica transparente, sustentada a 20 cm acima das plantas por uma estrutura de madeira, por um período de 48 h a fim de simular uma câmara úmida e manter condições ideais de umidade e temperatura para a infecção.

Foram realizadas quatro avaliações, sendo aos 7, 14, 19 e 24 dias após a inoculação – DAI. Em cada avaliação, determinou-se a severidade dos sintomas, sempre na sexta ou sétima folha expandida de cada planta, de forma visual e com auxílio da escala diagramática proposta por James (1971). Os dados obtidos nas avaliações foram utilizados para o cálculo da variável área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), por meio da equação proposta por Campbell e Madden (1990).

A partir da AACPD, foram estimados os seguintes parâmetros genéticos, de acordo com as expressões apresentadas por Cruz et al. (2006):

- Variância fenotípica, sendo:

$$\hat{\sigma}_{f(F_2)}^2 = \hat{\sigma}_{F_2}^2$$

- Variância de ambiente na F₂, sendo:

$$\hat{\sigma}_{w(F_2)}^2 = \frac{\hat{\sigma}_{P_1}^2 + 2\hat{\sigma}_{F_1}^2 + \hat{\sigma}_{P_2}^2}{4}$$

- Variância genotípica na F₂, sendo:

$$\hat{\sigma}_{g(F_2)}^2 = \hat{\sigma}_{f(F_2)}^2 - \hat{\sigma}_{w(F_2)}^2$$

- Variância aditiva na F₂, sendo:

$$\hat{\sigma}_{a(F_2)}^2 = \frac{1}{2} a^2 = 2\hat{\sigma}_{g(F_2)}^2 - [\hat{\sigma}_{g(RC1)}^2 + \hat{\sigma}_{g(RC2)}^2]$$

Em que:

$$\hat{\sigma}_{g(RC1)}^2 = \hat{\sigma}_{f(RC1)}^2 - \hat{\sigma}_{w(RC1)}^2$$

$$\hat{\sigma}_{g(RC2)}^2 = \hat{\sigma}_{f(RC2)}^2 - \hat{\sigma}_{w(RC2)}^2$$

- Variância devido aos desvios de dominância na F₂, sendo:

$$\hat{\sigma}_{d(F_2)}^2 = \frac{1}{4} d^2 = \hat{\sigma}_{g(F_2)}^2 - \hat{\sigma}_{a(F_2)}^2$$

- Herdabilidade no sentido amplo, sendo:

$$h_a^2 = \frac{\hat{\sigma}_{g(F_2)}^2}{\hat{\sigma}_{f(F_2)}^2} = \frac{\hat{\sigma}_{g(F_2)}^2}{\hat{\sigma}_{g(F_2)}^2 + \hat{\sigma}_{w(F_2)}^2}$$

- Herdabilidade no sentido restrito, sendo:

$$h_r^2 = \frac{\hat{\sigma}_{a(F_2)}^2}{\hat{\sigma}_{f(F_2)}^2} = \frac{\hat{\sigma}_{a(F_2)}^2}{\hat{\sigma}_{a(F_2)}^2 + \hat{\sigma}_{d(F_2)}^2 + \hat{\sigma}_{w(F_2)}^2}$$

- Grau médio de dominância considerando médias, sendo:

$$k_m = \frac{2\bar{F}_1 - (\bar{P}_1 + \bar{P}_2)}{\bar{P}_1 - \bar{P}_2}$$

- Grau médio de dominância considerando variâncias, sendo:

$$k_v = \frac{d}{a} = \sqrt{\frac{d^2}{a^2}} = \sqrt{\frac{2\hat{\sigma}_d^2}{\hat{\sigma}_a^2}}$$

- Número mínimo de genes no caráter, sendo:

$$n = \frac{R^2(1 + 0,5k^2)}{8\sigma_g^2}$$

Em que:

$$R = \bar{P}_1 - \bar{P}_2$$

- Heterose ou vigor híbrido, sendo:

$$h(\%) = \frac{(\bar{F}_1 - \frac{\bar{P}_1 + \bar{P}_2}{2}) \cdot 100}{\frac{\bar{P}_1 + \bar{P}_2}{2}}$$

- Heterobeltiose em relação ao pai superior, sendo:

$$h_b(\%) = \frac{F_1 - \bar{P}_s}{\bar{P}_s} \cdot 100$$

Os parâmetros genéticos estimados a partir das médias de AACPD das diferentes gerações foram obtidos com base no modelo completo de seis parâmetros e no modelo reduzido, com três parâmetros, conforme apresentado por Cruz et al. (2006). Para o modelo completo foi considerado o efeito das médias (\hat{m}), aditivo (a), dominante (\hat{d}) e epistáticos: aditivo x aditivo (\hat{aa}), aditivo x dominante (\hat{ad}) e dominante x dominante (\hat{dd}). Ademais, o modelo reduzido foi aplicado considerando o efeito da média (\hat{m}), aditivo (\hat{a}) e dominante (\hat{d}).

Para ambos os modelos, considerou-se que:

\widehat{m} = média de todos os possíveis homozigotos, considerando todos os genes que controlam a característica;

\widehat{a} = medida dos efeitos aditivos de todos os genes que controlam a característica;

\widehat{d} = medida dos desvios da dominância de todos os genes que controlam a característica.

\widehat{aa} = medida de todas as interações aditiva x aditiva entre dois genes, considerando-se todos os genes que controlam a característica;

\widehat{ad} = medida de todas as interações aditiva x dominante entre dois genes, considerando-se todos os genes que controlam a característica; e

\widehat{dd} = medida de todas as interações dominante x dominante entre dois genes considerando-se todos os genes que controlam o caráter.

Para análise considerou-se o sistema de equações estabelecido pela média de AACPD de cada geração representado na forma matricial $Y = X\beta + \varepsilon$, onde:

$$Y = \begin{bmatrix} \overline{P_1} \\ \overline{P_2} \\ \overline{F_1} \\ \overline{F_2} \\ \overline{RC_1} \\ \overline{RC_2} \end{bmatrix}; X = \begin{bmatrix} 1 & 1 & 0 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & -1 & 0 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 1 & 0 & 0 & 1 \\ 1 & 0 & 1/2 & 0 & 0 & 1/4 \\ 1 & 1/2 & 1/2 & 1/4 & 1/4 & 1/4 \\ 1 & -1/2 & 1/2 & 1/4 & -1/4 & 1/4 \end{bmatrix}; \beta = \begin{bmatrix} \widehat{m} \\ \widehat{a} \\ \widehat{d} \\ \widehat{aa} \\ \widehat{ad} \\ \widehat{dd} \end{bmatrix}; \varepsilon = \begin{bmatrix} e_1 \\ e_2 \\ e_3 \\ e_4 \\ e_5 \\ e_6 \end{bmatrix}$$

Assim, aplicando-se a solução $\beta = (x'x)^{-1}x'y = x^{-1}y$, foram estimados:

$$\widehat{m} = \frac{1}{2}\overline{P_1} + \frac{1}{2}\overline{P_2} + 4\overline{F_2} - 2\overline{RC_1} - 2\overline{RC_2}$$

$$\widehat{a} = \frac{1}{2}\overline{P_1} - \frac{1}{2}\overline{P_2}$$

$$\widehat{d} = -\frac{3}{2}\overline{P_1} - \frac{3}{2}\overline{P_2} - \overline{F_1} - 8\overline{F_2} + 6\overline{RC_1} + 6\overline{RC_2}$$

$$\widehat{aa} = -4\overline{F_2} + 2\overline{RC_1} + 2\overline{RC_2}$$

$$\widehat{ad} = -\overline{P_1} + \overline{P_2} + 2\overline{RC_1} - 2\overline{RC_2}$$

$$\widehat{d} = \overline{P}_1 + \overline{P}_2 + 2\overline{F}_1 + 4\overline{F}_2 - 4\overline{RC}_1 - 4\overline{RC}_2$$

Utilizou-se o teste t para averiguar a significância da hipótese de o efeito de cada parâmetro ser nulo. Adicionalmente, as médias de AACPD das seis gerações foram comparadas via teste t a 5% de probabilidade. Todas as análises foram realizadas com o auxílio do aplicativo computacional em genética e estatística GENES (Cruz, 2013) e o aplicativo computacional R (R core Team, 2020).

3 RESULTADOS

3.1 Distribuição das observações de severidade em cada avaliação

A distribuição das observações de severidade dos sintomas da MHM nas diferentes gerações é apresentada na Figura 1.

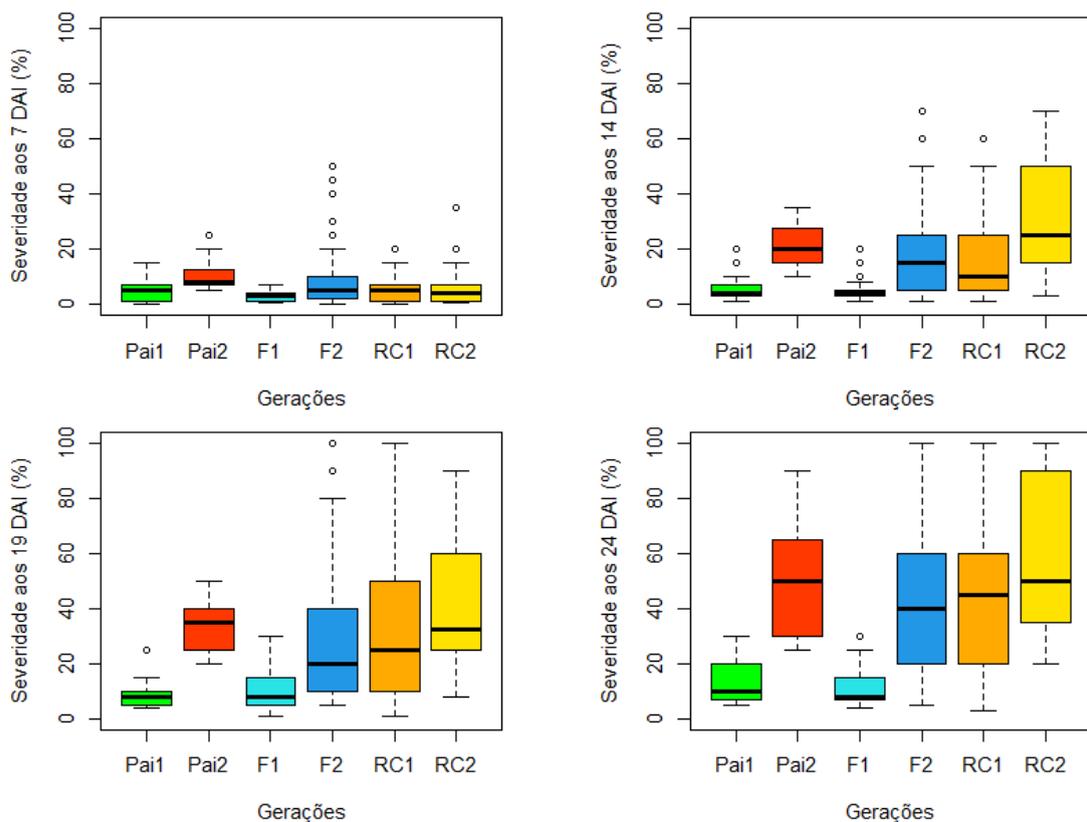


FIGURA 1 - Distribuição das observações da severidade dos sintomas da mancha de helminthosporiose maidis nas gerações Pai1, Pai2, F1, F2, RC₁ e RC₂ de milho-pipoca, avaliada aos 7, 14, 19 e 24 dias após a inoculação (DAI).

A linhagem parental L353, representada como Pai₁, apresentou baixa severidade ao longo das avaliações e foi contrastante com a Linhagem L653, representada como Pai₂. Observa-se ainda que a distribuição do F₁ foi semelhante à do Pai₁ (Figura 1).

Para severidade avaliada aos 7 DAI, as médias das diferentes gerações foram, 4,78% para Pai₁, 10,20% para Pai₂, 2,90% para F₁, 7,28% para F₂, 5,15% para RC₁ e 5,32% para o RC₂. Para a severidade avaliada aos 14 DAI, as gerações apresentaram médias de 6,33% para Pai₁, 22,0% para Pai₂, 5,5% para F₁, 18,3% para F₂, 17,59% para RC₁ e 29,9% para RC₂. Para a severidade avaliada aos 19 DAI, as gerações apresentaram médias de 9,33% para Pai₁, 34,0% para Pai₂, 10,8% para F₁, 28,73% para F₂, 27,9% para RC₁ e 41,33% para RC₂. E por fim, para a severidade avaliada aos 24 DAI, as gerações apresentaram médias de 14,05% para Pai₁, 49,67% para Pai₂, 11,92% para F₁, 42,6% para F₂, 43,79% para RC₁ e 43,79% para RC₂ (Figura 1).

3.2 Análise de variâncias e parâmetros genéticos para AACPD

Para a variável AACPD (Tabela 1), as diferentes gerações apresentaram médias de 136,5 para Pai₁, 461,9 para Pai₂, 132,6 para F₁, 388,6 para F₂, 372,7 para RC₁ e 554,0 para RC₂. As médias apresentadas pelos parentais Pai₁ e Pai₂ foram diferentes estatisticamente. Entretanto, a média da geração F₁ não diferiu da média do Pai₁ e, também, observaram-se médias estatisticamente iguais para Pai₂ e F₂, e para Pai₂ e RC₂. Médias diferentes também foram observadas entre as gerações RC₁ e RC₂, pelo teste t a 5% (tabela 1).

Quanto aos parâmetros genéticos, apresentados na Tabela 2, verificou-se variância fenotípica de 72135,22. A decomposição da variância fenotípica revelou que 86% da variação observada foi devido à variância genética e apenas 14% (10126,73) foi devido à variância de ambiente. Para a decomposição da variância genética, houve predominância da variância de dominância, que correspondeu a 66,6% (41318,77) da variância genotípica em relação à variância

aditiva com 33,4% (20689.73). As estimativas de herdabilidade foram de 85,96% no sentido amplo e de 28,68% no sentido restrito (Tabela 2).

TABELA 1 - Descrição das populações avaliadas, médias e variâncias para AACPD com base na severidade da mancha de helmintosporiose maidis em folha de milho-pipoca.

Gerações	Genótipo	Nº Indivíduos	Média	Variância
P ₁	L353 (Resistente)	21	136,5 a	5627,16
P ₂	L653 (Suscetível)	15	461,9 cd	16060,40
F ₁	L353 x L653	26	132,6 a	9409,67
F ₂	F ₁ x F ₁	242	388,6 bc	72135,22
RC ₁	F ₁ x L353	117	372,7 b	57139,96
RC ₂	F ₁ x L653	104	554,0 d	66440,76

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste t, a 5%

Quanto aos parâmetros genéticos, apresentados na Tabela 2, verificou-se variância fenotípica de 72135,22. A decomposição da variância fenotípica revelou que 86% da variação observada foi devido à variância genética e apenas 14% (10126,73) foi devido à variância de ambiente. Para a decomposição da variância genética, houve predominância da variância de dominância, que correspondeu a 66,6% (41318.77) da variância genotípica em relação à variância aditiva com 33,4% (20689.73). As estimativas de herdabilidade foram de 85,96% no sentido amplo e de 28,68% no sentido restrito (Tabela 2).

Para a heterose e heterobeltiose (Tabela 2) observaram-se valores de -55,68% e -2,88%, respectivamente, o que representa ganhos de resistência na geração F₁ em relação à média dos parentais Pai₁ e Pai₂, bem como em relação ao pai superior, neste caso, o Pai₁. A estimativa do número mínimo de genes de resistência à MHM revelou a presença de nove a dez genes, com estimativa de dominância de 1,02 para médias e 1,99 para variâncias (Tabela 2).

TABELA 2 - Parâmetros genéticos estimados na população F₂ para AACPD com base na severidade da mancha de helmintosporiose maidis em folha de milho-pipoca.

Parâmetros	Estimativa
Variância fenotípica ($\hat{\sigma}_f^2$)	72135,22
Variância de ambiente ($\hat{\sigma}_w^2$)	10126,73
Variância genotípica ($\hat{\sigma}_g^2$)	62008,49
Variância aditiva ($\hat{\sigma}_a^2$)	20689,73
Variância de dominância ($\hat{\sigma}_d^2$)	41318,77
Herdabilidade no sentido amplo (h^2_a)	85,96 %
Herdabilidade no sentido restrito (h^2_r)	28,68 %
Heterose	-55,68 %
Heterobeltiose P ₁	-2,88 %
Grau médio de dominância (Médias)	1,02
Grau médio de dominância (Variâncias)	1,99
Número de genes	9,36

Na Figura 2, tem-se a distribuição de frequência para AACPD obtida na geração segregante F₂. A formação das classes apresenta uma distribuição aproximada da curva normal de distribuição, com maior concentração dos indivíduos nas classes de menores valores, observando-se ainda a presença de indivíduos transgressivos em relação aos parentais. Em relação aos parentais e F₁, nota-se que o posicionamento do F₁ foi alocado na mesma classe do P₁.

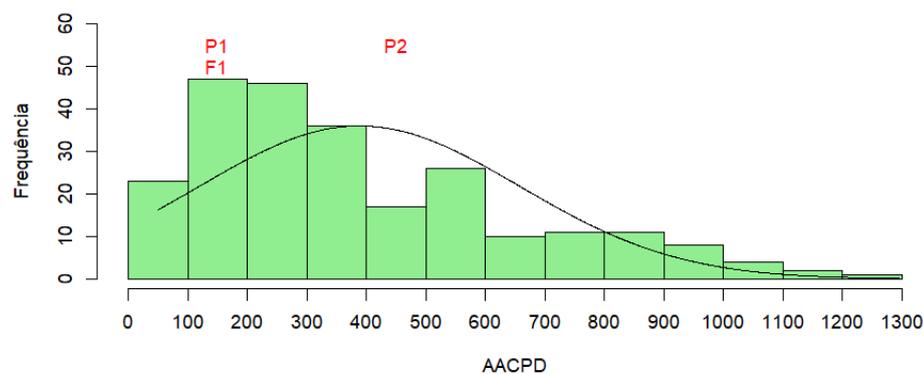


FIGURA 2 - Distribuição de frequência para AACPD a partir das avaliações de severidade da mancha de helmintosporiose maidis avaliadas na geração F₂ de milho-pipoca.

3.3 Análise de médias via modelo completo e reduzido

A análise de médias para a AACPD demonstrou efeito não significativo para os parâmetros média dos homozigotos (\hat{m}) e para a interação epistática digênica aditiva x dominante (\widehat{ad}), e efeito significativo para todos os outros, sendo: efeitos aditivos (\hat{a}); efeitos dominantes (\hat{d}); interação digênica aditiva x aditiva (\widehat{aa}); e efeito da interação digênica dominante x dominante; pela estatística do teste t, a 1% de probabilidade (Tabela 3).

TABELA 3 - Estimativa dos parâmetros genéticos, variâncias e teste t para o modelo completo (aditivo-dominante-epistático), e decomposição não-ortogonal da soma de quadrados (SQ) pelo método de Gauss, contribuição relativa (CR) e R-quadrado geral (R^2) dos parâmetros, para o modelo, ajustado com base nas médias da AACPD avaliada no ensaio de reação MHM, de seis gerações de milho-pipoca (P₁, P₂, F₁, F₂, RC₁, RC₂).

Parâmetros	Estimativa	Variância	Test t
\hat{m}	0,35	9612,85	0,00 ^{ns}
\hat{a}	-162,67	334,66	-8,89**
\hat{d}	1420,87	63031,22	5,66**
\widehat{aa}	298,85	9278,19	3,10**
\widehat{ad}	-37,35	5847,57	-0,49 ^{ns}
\widehat{dd}	-1288,62	25591,24	-8,06**
Dessa forma FV	SQ	CR	
$\hat{m}/\hat{a}, \hat{d}, \widehat{aa}, \widehat{ad}, \widehat{dd}$	0,00	0,00	
$\hat{a}/\hat{m}, \hat{d}, \widehat{aa}, \widehat{ad}, \widehat{dd}$	79,06	42,54	
$\hat{d}/\hat{m}, \hat{a}, \widehat{aa}, \widehat{ad}, \widehat{dd}$	32,03	17,23	
$\widehat{aa}/\hat{m}, \hat{a}, \hat{d}, \widehat{ad}, \widehat{dd}$	9,63	5,18	
$\widehat{ad}/\hat{m}, \hat{a}, \hat{d}, \widehat{aa}, \widehat{dd}$	0,24	0,13	
$\widehat{dd}/\hat{m}, \hat{a}, \hat{d}, \widehat{aa}, \widehat{ad}$	64,89	34,91	
Total	185,85		
R^2	1		

^{ns} Não-significativo. * e **Significativo a 5% e a 1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste “t” de student.

Através da decomposição não-ortogonal da soma de quadrados no modelo completo,

verificou-se que o efeito genético, referente à aditividade, foi o mais importante com uma contribuição relativa de 42,5% para AACPD, seguido pela interação epistática digênica dominante x dominante (\widehat{dd}) com contribuição de 34,9%, e pelo efeito de dominância (\widehat{d}) com 17,23%. A contribuição da interação digênica aditiva x aditiva (\widehat{aa}) apresentou contribuição de 5,18% e, ainda para este modelo, o valor de R-quadrado foi de 1 (Tabela 3).

Para o modelo aditivo-dominante, verificou-se significância para todos os parâmetros do modelo, pelo teste t. A decomposição evidenciou maior contribuição relativa para o modelo vinda do parâmetro média (\widehat{m}) com 76,05%, seguido pelo efeito aditivo (\widehat{a}) com 20,44% e, por último, o efeito de dominância (\widehat{d}) com 3,50%, o R-quadrado para esse modelo foi de 0,5 (tabela 4).

Tabela 4 - Estimativa dos parâmetros genéticos, variâncias e teste t e decomposição não-ortogonal da soma de quadrados (SQ) pelo método de Gauss, contribuição relativa (CR) e R-quadrado geral (R^2) dos parâmetros (m, a, d,) para o modelo aditivo-dominante, ajustado com base nas médias da AACPD avaliada no ensaio de reação MHM, de seis gerações de milho-pipoca (P₁, P₂, F₁, F₂, RC₁, RC₂).

Parâmetro	Estimativa	Variância	Teste t
\widehat{m}	402,33	235,16	26,24**
\widehat{a}	-211,72	242,27	-13,60**
\widehat{d}	-145,25	665,31	-5,63**
Parâmetro	SQ	CR	
$\widehat{m}/\widehat{a},\widehat{d}$	688.34	76.05	
$\widehat{a}/\widehat{m},\widehat{d}$	185.02	20.44	
$\widehat{d}/\widehat{m},\widehat{a}$	31.71	3.50	
Total	905,07		
R^2	0,5		

^{ns} Não-significativo. * e **Significativo a 5% e a 1% de probabilidade, respectivamente, pelo teste “t” de student

4 DISCUSSÃO

O uso de cultivares resistentes é um método pragmático para o controle de doenças em culturas agrícolas em todo o mundo. O conhecimento da herança, dos efeitos genéticos, e da natureza e magnitude da ação gênica que governa o mecanismo de resistência, são informações relevantes para o melhorista de plantas que deseja obter cultivares resistentes. Estas informações podem ser facilmente acessadas pelo estudo da análise de médias de gerações. Embora existam outros métodos, este é considerado um dos melhores para essa finalidade (Hayman, 1958). Dada a relevância da MHM na cultura do milho-pipoca, realizou-se este estudo para estimar a herança da resistência à MHM, analisando diferentes gerações obtidas a partir do cruzamento de duas linhagens homozigotas e contrastantes quanto à resistência.

Os resultados obtidos evidenciaram contraste significativo para a resistência à MHM entre os parentais L353 (Pai₁, resistente) e L653 (Pai₂, suscetível), conforme identificado por Ferreira et al. (2024). Diferenças no nível de severidade dos sintomas da doença, na planta e nas folhas, foram perceptíveis entre as linhagens parentais e geração F₁, e podem ser observadas nas Figuras 3 e 4. Um dos pressupostos da análise de médias de gerações consiste no contraste entre as gerações parentais para a característica de interesse no estudo, assim, os resultados obtidos a partir das gerações utilizadas nesta pesquisa podem ser considerados relevantes uma vez que atendem a este pressuposto.

Os resultados encontrados apontam maior contribuição da variância de dominância em relação à aditiva para a variância genotípica estimada na geração F₂, sugerindo efeito de dominância para a resistência à MHM em milho-pipoca. Além do mais, as estimativas de grau médio de dominância reforçam este achado, indicando dominância completa quando estimado a partir das médias observadas ($k_m = 1,02$) e, sobredominância, quando analisado a partir das variâncias ($k_v = 1,99$).

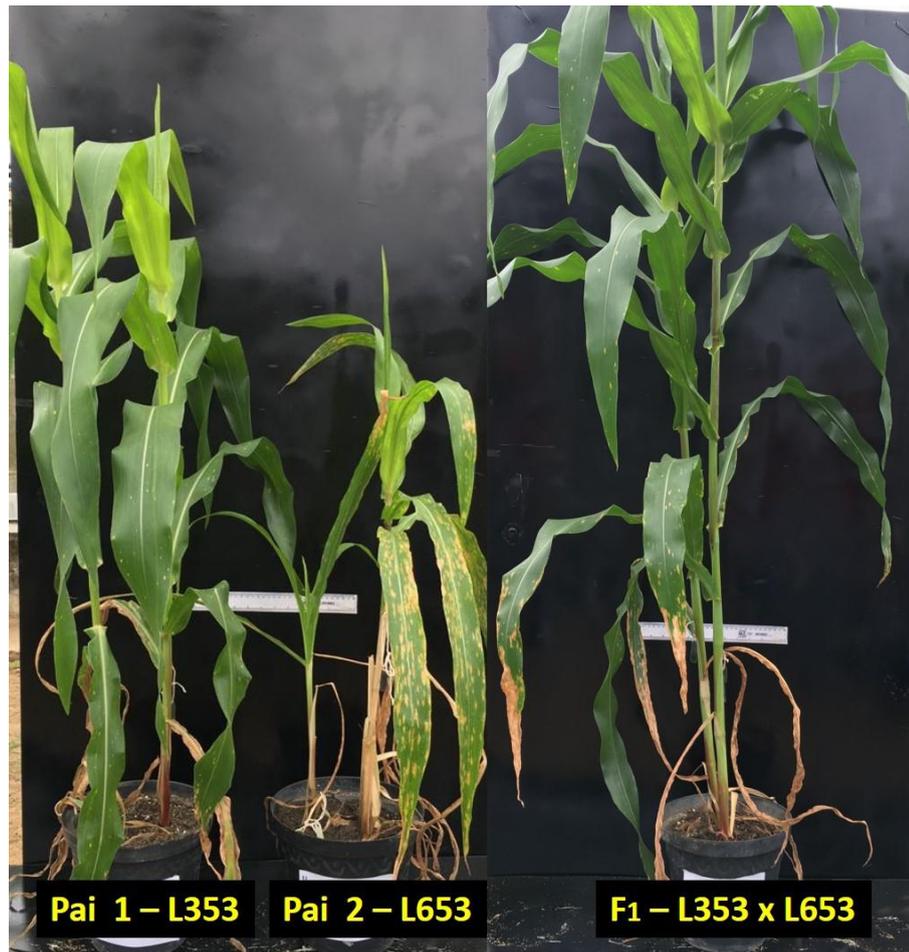


FIGURA 3 - Aspecto das plantas inoculadas com *Bipolaris maydis* apresentando sintomas da mancha de helmintosporiose maidis nas gerações Pai₁ – L353 (Resistente), Pai₂ – L653 (Suscetível) e F₁ - L353 x L653.

Para milho comum, algumas pesquisas apontaram efeito parcialmente dominante para a resistência quantitativa à MHM, onde o F₁ apresenta média intermediária às médias dos parentais (Kumar et al., 2016; Jeevan et al., 2020). Cabe ressaltar que na pesquisa realizada por Jeevan et al. (2020), a proximidade da média do F₁ em relação ao parental resistente foi diferente entre os diferentes locais em que foram avaliados. Em um dos três ambientes avaliados pelos autores, a média do F₁ foi estatisticamente igual a média do parental resistente e, ainda, as estimativas de grau médio de dominância, baseado em variâncias foram superiores a 1, indicando dominância

completa e ou, sobredominância, similar aos resultados encontrados nesta pesquisa. Ainda considerando o milho comum, os resultados encontrados nesta pesquisa estão de acordo com aqueles apresentados por Shieh e Lu (1993) e Karimishahri e Sharma (2017).

Para o milho-pipoca, a maior contribuição da variância de dominância para a resistência à MHM é um resultado conveniente, isso porque, assim como ocorre no milho comum, o desenvolvimento de cultivares pela hibridação é um dos métodos habituais mais utilizados pelos melhoristas e, dessa forma, o desenvolvimento de cultivares de milho-pipoca resistentes à MHM poderá ser realizado adotando o mesmo método. Essa indicação pode ser sustentada, também, pelos valores estimados para heterose e heterobeltiose. Para esses parâmetros, os resultados indicaram superioridade F_1 , com média de AACPD 55,68% menor do que a média dos pais e 2,88% menor do que a média do pai superior, indicando assim os ganhos devido aos desvios de dominância.

Outro ponto importante a ser observado quanto às variâncias estimadas, é a variância aditiva presente no controle da característica. Embora a variância de dominância tenha maior contribuição para a variância genotípica observada, a variância aditiva representou cerca de 33,4%, o que é um valor considerável, sugerindo uma contribuição importante dos efeitos aditivos no controle da MHM, que deve ser levada em consideração nos programas de melhoramento de milho-pipoca.

Em milho-pipoca, estudos envolvendo linhagens resistentes e suscetíveis, em delineamento genético de dialelo, demonstraram efeitos aditivos e não aditivos envolvidos no controle da resistência, entretanto, prevalecendo os efeitos não aditivos (Santos et al., 2019; Kurosawa et al., 2020). Ademais, a relação entre variância gamética e variância fenotípica demonstrou valor considerável (28,68%), indicando a importância de explorar os efeitos aditivos para a resistência à MHM nos programas de melhoramento.

Em milho-pipoca, estudos envolvendo linhagens resistentes e suscetíveis, em delineamento genético de dialelo, demonstraram efeitos aditivos e não aditivos envolvidos no controle da resistência, entretanto, prevalecendo os efeitos não aditivos (Santos et al., 2019; Kurosawa et al., 2020). Ademais, a relação entre variância gamética e variância fenotípica demonstrou valor considerável (28,68%), indicando a importância de explorar os efeitos aditivos para a resistência à MHM nos programas de melhoramento.

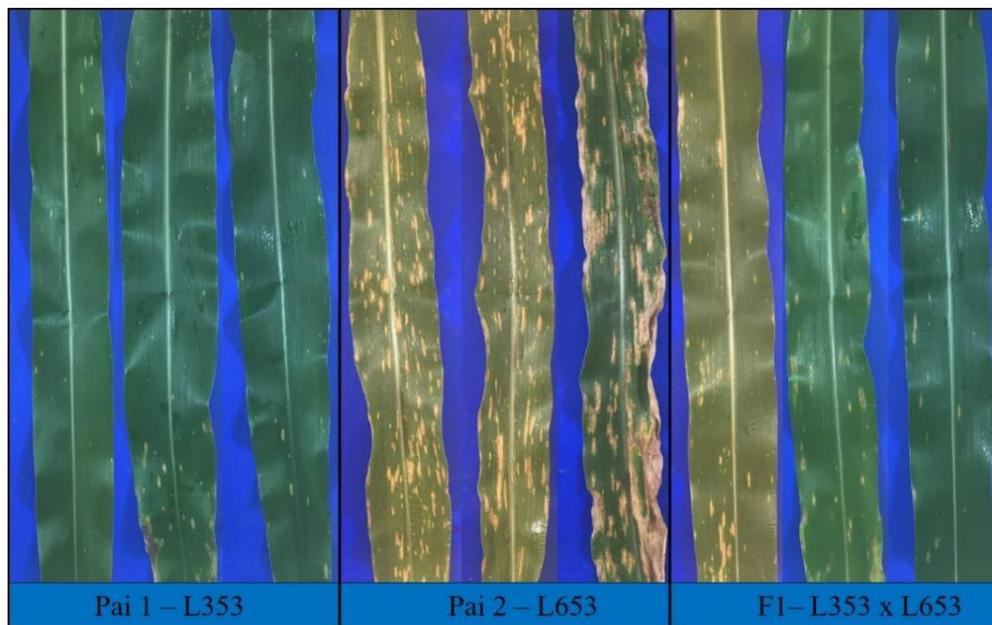


FIGURA 4 - Aspecto das folhas inoculadas com *Bipolaris maydis* apresentando sintomas da mancha de helmintosporiose maidis nas gerações Pai₁ – L353 (Resistente), Pai₂ – L653 (Suscetível) e F₁ - L353 x L653.

Em milho-pipoca, estudos envolvendo linhagens resistentes e suscetíveis, em delineamento genético de dialelo, demonstraram efeitos aditivos e não aditivos envolvidos no controle da resistência, entretanto, prevalecendo os efeitos não aditivos (Santos et al., 2019; Kurosawa et al., 2020). Ademais, a relação entre variância gamética e variância fenotípica demonstrou valor considerável (28,68%), indicando a importância de explorar os efeitos aditivos para a resistência à MHM nos programas de melhoramento.

A análise de médias revelou importante contribuição dos efeitos de interações digênicas envolvidas no controle da resistência à MHM, sendo significativa para interação aditiva x aditiva e dominante x dominante, com maior efeito no segundo caso. Dessa forma, o modelo de seis parâmetros, envolvendo efeitos epistáticos, deve ser adotado para as interpretações, uma vez que o modelo reduzido pode viesar as estimativas na presença de epistasia e, neste estudo, este modelo apresentou $R^2 = 1$, indicando sua adequação para estimar os parâmetros genéticos.

Os efeitos epistáticos associados à resistência à MHM ainda são poucos estudados e explorados. Importantes contribuições desses efeitos foram observadas nesse trabalho, e estão em consonância aos resultados obtidos por Jeevan et al. (2020) em milho comum. Embora a maioria das pesquisas com análise de QTLs apontem a identificação de importantes genes com efeitos maiores associados à resistência, algumas pesquisas identificaram interações epistáticas, corroborando os resultados deste trabalho (Balint-Kurti et al., 2006; Kaur et al., 2019).

Os ganhos genéticos para resistência à MHM em milho-pipoca podem ser via exploração da variância gamética, a qual está representada pela variância aditiva, bem como pelos componentes não aditivos, referente aos desvios de dominância e interações epistáticas. Uma boa estratégia que pode ser recomendada para melhoristas de milho-pipoca que desejam desenvolver variedades resistentes à MHM é estabelecer em seus programas de melhoramento, em primeiro momento, métodos para exploração da variância aditiva, como o melhoramento populacional, a fim de aumentar a frequência dos alelos favoráveis à resistência e, em um segundo momento, a obtenção de linhagens a partir de populações melhoradas para a produção de híbridos e exploração dos efeitos não aditivos.

5 CONCLUSÕES

Efeitos aditivos e não aditivos estão relacionados à resistência à MHM em milho-pipoca com maior contribuição dos não aditivos.

A resistência à MHM se adequou ao tipo de herança poligênica, com ação gênica predominantemente dominante.

Métodos de melhoramento, como a seleção recorrente e a hibridação, podem ser empregados para obtenção de ganhos genéticos para a resistência à MHM.

REFERÊNCIAS

- Ali, F., Rahman, H., Durrishahwar, Nawaz, I., Munir, M. & Ullah, H. (2011). Genetic analysis of maturity and morphological traits under Maydis Leaf Blight (MLB) epiphytotics in maize (*Zea mays* L.). *Journal of Agricultural and Biological Science*, 6, 1990-6145.
- Balint-Kurti, P. J., Krakowsky, M. D., Jines, M. P., Robertson, L. A., Molnár T. L., Goodman, M. M., & Holland, J. B. (2006). Identification of quantitative trait loci for resistance to southern leaf blight and days to anthesis in a maize recombinant inbred line population. *Phytopathology*, 96, 1067-1071. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-96-1067>
- Burnette, D. C., & White, D. G. (1985). Inheritance of resistance to *Bipolaris maydis* race O in crosses derived from nine resistance inbred lines of maize. *Phytopathology*, 75, 1195-1200. DOI: 10.1094/Phyto-75-1195
- Byrnes, K. J., Pataky, J. K., & White, D. G. (1989). Relationships between yield of three maize hybrids and severity of southern leaf blight caused by race O of *Bipolaris maydis*. *Plant Disease*, 73, 834-840. DOI: 10.1094/PD-73-0834
- Campbell, C. L., & Madden, L. V. (1990). Introduction to Plant Disease Epidemiology. New York, NY: John Wiley & Sons.
- Chang, R. Y., & Peterson, P. A. (1995). Genetic control of resistance to *Bipolaris maydis*: one gene or two genes?. *Journal of Heredity*, 86, 94-97. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jhered.a111555>
- Costa, R. V. da., Silva, D. D. da., & Cota, L. V. (2014). Mancha de *Bipolaris* do Milho. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo. p. 4. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 207).
- Craig, J., & Fajemisin, J. M. (1969). Inheritance of chlorotic lesion resistance to *Helminthosporium maydis* in maize. *Plant Disease Reporter*, 54, 742-743.
- Cruz, C. D. (2013). GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. *Acta Scientiarum Agronomy*, 35, 271-276. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v35i3.21251>
- Cruz, C. D. (2006). Programa Genes: aplicativo computacional em genética e estatística: versão Windows. Viçosa: Editora UFV, 382p.
- Ferreira, C. M., Saluci, J. C. G., Vivas, M., Santos, J. S., de Andrade Junior, M. S., Vivas, J. M. S., Ramos, G. K. S., & Graviana, G. A. (2024). Characterization of the *Bipolaris maydis*: symptoms and pathogenicity in popcorn genotypes (*Zea mays* L.). *Brazilian Journal of Biology*, 84,1-7. doi: 10.1590/1519-6984.256799. PMID: 35137841.
- Fisher, D. E., Hooker, A. L., Lim, S. M., & Smith, D. R. (1976). Leaf infection and yield loss caused by four *Helminthosporium* leaf diseases of corn. *Phytopathology*, 66, 942-944. DOI: 10.1094/Phyto-66-942.

- Hayman, B. I. (1958). The separation of epistatic from additive and dominance variation in generation means. *Heredity*, 12, 371–390. <https://doi.org/10.1038/hdy.1958.36>
- Holley, R. N., & Goodman, M. M. (1989). New sources of resistance to southern corn leaf blight from tropical hybrid maize derivatives. *Plant Disease*, 73, 562-564. DOI: 10.1094/PD-73-0562.
- James, W. C. (1971). A manual of assessment keys for plants diseases. American Phytopathological Society, St. Paul.
- Jeevan, B., Gogoi, R., Sharma, D., Manjunatha, C., Rajashekara, H., Dama Ram, & Mishra, K. K. (2020). Genetic analysis of maydis leaf blight resistance in subtropical maize (*Zea mays* L.) germplasm. *Journal of Genetics*, 99, 1-9. <https://doi.org/10.1007/s12041-020-01245-3>
- Karimishahri, M. R., & Sharma, R. (2017). Inheritance of resistance to maydis leaf blight in maize. *Agricultura e Silvicultura*, 63, 261-275. doi.org/10.17707/AgricultForest.63.1.29
- Kaur, M., Vikal, Y., Kaur, H., Pal, L., Kaur, K., & Chawla, J.S. (2019). Mapping quantitative trait loci associated with southern leaf blight resistance in maize (*Zea mays* L.). *Journal of Phytopathology*, 167, 591-600. DOI: 10.1111/jph.12849
- Kumar, B., Hooda, K. S., Gogoi, R., Kumar, V., Kumar, S., Abhishek, A., Bhati, P., Sekhar, J. C., Yathish, K. R., Singh, V., Das, A., Mukri, G., Varghese, E., Kaur, H., Malik, V., & Yadav, O. P. (2016). Inheritance study and stable sources of maydis leaf blight (*Cochliobolus heterostrophus*) resistance in tropical maize germplasm. *Cereal Research Communications*, 44, 424-434. <https://doi.org/10.1556/0806.44.2016.004>
- 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. *Nature Genetics*, 43, 163-168. DOI: 10.1038/ng.747
- Kurosawa, R. N. F., do Amaral Junior, A. T., Vivas, J. M. S., Vivas, M. Kamphorst, S. H., Lima, V. J., & Almeida, R. N. (2020). Selection of popcorn hybrids resistant to southern corn leaf blight grown in distinct N availability. *European Journal of Plant Pathology*, 158, 485-493. doi: <https://doi.org/10.1007/s10658-020-02091-w>
- 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.
- Martins, L. B., Rucker, E., Thomason, W., Wisser, R. J., Holland, J. B., & Balint-Kurti, P. (2019). Validation and characterization of maize multiple disease resistance QTL. *G3: Genes, Genomes, Genet*, 9, 2905-2912. DOI: 10.1534/g3.119.400195
- Mueller, D. S., Wise, K. A., Sisson, A. J., Allen, T. W., Bergstrom, G. C., Bissonnette, K. M., Bradley, C. A., Byamukama, E., Chilvers, M. I., Collins, A. A., Esker, P. D., Faske, T. R., Friskop, A. J., Hagan, A. K., Heiniger, R. W., Hollier, C. A., Isakeit, T., Jackson Ziems, T. A., Jardine, D. J., Kelly, H. M., Kleczewski, N. M., Koehler, A. M., Koenning, S. R., Malvick, D. K., Mehl, H. L., Meyer, R. F., Paul, P. A., Peltier, A. J., Price, P. P., Robertson, A. E., Roth, G. W., Sikora, E. J., Smith, D. L., Tande, C. A., Telenko, D. E. P., Tenuta, A. U., Thiessen, L. D., & Wiebold, W. J. (2020). Corn Yield Loss Estimates Due to Diseases in the United States and Ontario, Canada, from 2016 to 2019. *Plant Health Progress*, 21, 238-247. doi.org/10.1094/PHP-05-20-0038-RS
- Mueller, D. S., Wise, K. A., Sisson, A. J., Allen, T. W., Bergstrom, G. C., Bosley, D. B., Bradley, C. A., Broders, K. D., Byamukama, E., Chilvers, M. I., Collins, A., Faske, T. R., Friskop, A. J., Heiniger, R. W., Hollier, C. A., Hooker, D. C., Isakeit, T., Jackson-Ziems, T. A.,

- Jardine, D. J., Kelly, H. M., Kinzer, K., Koenning, S. R., Malvick, D. K., McMullen, M., Meyer, R. F., Paul, P. A., Robertson, A. E., Roth, G. W., Smith, D. L., Tande, C. A., Tenuta, A. U., Vincelli, P., & Warner, F. (2016). Corn yield loss estimates due to diseases in the United States and Ontario, Canada from 2012 to 2015. *Plant Health Progress*, 17, 211-222. doi.org/10.1094/PHP-RS-16-0030
- Negeri, A. T., Coles, N. D., Holland, J. B., & Balint-Kurti, P. J. (2011). Mapping QTL controlling southern leaf blight resistance by joint analysis of three related recombinant inbred line populations. *Crop Science*, 51, 1571-1579. doi:10.2135/cropsci2010.12.0672
- Pan, C. X., Li, X., Li, B., Xu, M. Q., & Qiu, L. Y. (2010). Disease and treatment of maize leaf spot. *Science Technology China Rural Prosperity*, 12, 54-55.
- Poole, N. F., & Arnaudin, M. E. (2014). The role of fungicides for effective disease management in cereal crops. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 36, 1-11. doi.org/10.1080/07060661.2013.870230
- R Core Team. (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, Available from URL. <http://www.r-project.org/>.
- Saluci, J. C. G., Vivas, M., Dutra, Í. P. De Almeida, R. N., Santos, J. S., Do Amaral Junior, A. T., & Pelúzio, J. B. E. (2023). Sources of resistance to *Bipolaris maydis* in popcorn lines under field conditions. *European Journal of Plant Pathology*, 165, 545-557. <https://doi.org/10.1007/s10658-022-02626-3>
- Santos, J. S., Vivas, M., 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, 1-7. doi:<https://doi.org/10.5039/agraria.v14i4a5677>
- Shieh, G. J., & Lu, H. S. (1993). Diallel analysis of mature plant resistance to *Helminthosporium maydis* in maize. *Jornal de Pesquisa Agrícola da China*, 42, 12-18. <https://doi.org/10.2135/cropsci1984.0011183X002400040042x>.
- Singh, R. & Srivastava, R. P. (2012). Southern corn leaf blight-an important disease of maize: an extension fact sheet. *Indian research journal of extension, Education*, 1, 334-337.
- Smith, D. R., & A. L. Hooker, (1973). Monogenic chlorotic lesion resistance in corn to *Helminthosporium maydis*. *Crop Science*, 13, 330-331. doi.org/10.2135/cropsci1973.0011183X001300030013x
- Thompson, D. L., & Berquist, R. R. (1982). A source of resistance to *Helminthosporium maydis* rice O that prolongs monogenic chlorotic lesion resistance in corn. *Phytopathology*, 72, 11-40.
- Ullstrup, A. J. The impacts of the southern corn leaf blight epidemics of 1970-1971. (1972). *Annual Review Phytopathology*, 10, 37-50. doi.org/10.1146/annurev.py.10.090172.000345
- Wei, J., Lui, K., Chen, J., Luo, P., & Leestadelmann, O. Y. (1988). Pathological and Pphysiological identification of race C of *Bipolaris maydis* in China. *Phytopathology*, 78, 550-554. DOI: 10.1094/Phyto-78-550.
car.

CONCLUSÕES

No primeiro experimento, foi identificada variabilidade para a resistência à MHM dentro o germoplasma de milho-pipoca avaliado. Os resultados a campo permitiram reduzir o número inicial de genótipos a serem avaliados no ambiente controlado sob inoculação artificial.

Do total avaliado, 23 linhagens (12,5%) foram identificadas com maior nível de resistência e, portanto, selecionadas para serem fontes de resistência à MHM. Dentre os materiais selecionados, há materiais com boas características para produtividade e capacidade de expansão dos grãos.

No segundo experimento, foram encontrados efeitos aditivos e não aditivos relacionados à resistência à MHM em milho-pipoca com maior contribuição dos não aditivos. A resistência à MHM se adequou ao tipo de herança poligênica, com ação gênica predominantemente dominante. Recomenda-se, portanto, métodos de melhoramento, como a seleção recorrente e a hibridação, para obtenção de ganhos genéticos para a resistência à MHM.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ali, F., Rahman, H., Durrishahwar, Nawaz, I., Munir, M. and Ullah, H. (2011) Genetic analysis of maturity and morphological traits under Maydis Leaf Blight (MLB) epiphytotics in maize (*Zea mays* L.). *Journal of Agricultural and Biological Science*, 6:1990-6145.

Ali, F., Yan, J. (2012). Disease resistance in maize and the role of molecular breeding in defending against global threat. *Journal of Integrative Plant Biology*, 54:134-151.

Almeida, R.N. de., Vivas, M., Santos Junior, D.R. dos., Saluci, J.C.G., Carlos, M.C., Santos, J.S., Amaral Júnior, A.T. do., Scapim, C.A. (2021) Combining abilities analysis for ear rot resistance in popcorn hybrids development. *Revista Ceres*, 68. <https://doi.org/10.1590/0034-737X202168010008>.

Balint-Kurti, P.J., Krakowsky, M.D., Jines, M.P., Robertson, L.A., Molnár, T.L., Goodman, M.M., Holl, J.B. (2006) Identification of quantitative trait Loci for resistance to southern leaf blight and days to anthesis in a maize recombinant inbred line population. *Phytopathology*, 96:1067-71. doi: 10.1094/PHYTO-96-1067. PMID: 18943494.

Bertolucci, M.F. (2022) Análise da concentração e expansão da produção e do beneficiamento do milho-pipoca (*Zea mays* L. var. everta (Sturtev.) L. H. Bailey) no Brasil. 81p. Dissertação (Mestrado em Agronegócio) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

Buckler, E.S., Stevens, N.M. (2005) Maize Origins, Domestication, and Selection. In: *Genetics and origins of crops*, 67-90.

Burnette, D.C., D.G. White. (1985) Inheritance of resistance to *Bipolaris maydis* race O in crosses derived from nine resistance inbred lines of maize. *Phytopathology*. 75:1195-1200.

Caranhato, A.L.H., Trindade, R.W.R., Uhdre, R.S., Pinto, R.J.B., Scapim, C. A., Paterniani, M.E. A. G. Z. (2022) Genetic improvement in popcorn. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*. 21: 1-25.

Catão, H.C.R.M., Caixeta, F. (2017) Physiological, isozyme changes and image analysis of popcorn seeds submitted to low temperatures. *J. Seed Sci.*, Londrina, 39 (3): 234-243. doi.org/10.1590/2317-1545v39n3169853.

Chandrashekara, C., Jha, S.K., Arunkumar, R, Agrawal, P.K. (2014) Identification of new sources of resistance to turicum leaf blight and maydis leaf blight in maize (*Zea mays* L.). *J. Breed. Genet.* 46:44-55.

Chang, R.Y., Peterson, P.A. (1995) Genetic control of resistance to *Bipolaris maydis*: one gene or two genes. *J. Heredity*, 86:94-97.

Costa, R.V. da., Silva, D.D. da., Cota, L.V. (2014) Mancha de *Bipolaris* do Milho. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo. p.4. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 207).

Canizares, L.D.C.C., da Silva Timm, N., Ramos, A.H., Neutzling, H.P., Ferreira, C.D., de Oliveira, M. (2020) Effects of moisture content and expansion method on the technological and sensory properties of white popcorn. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 22.

Craig, J., Fajemisin, J.M. (1969) Inheritance of chlorotic lesion resistance to *Helminthosporium maydis* in maize. *Plant Dis.*, 54:742:743.

Erwin, A.T. (1949) The origin and history of popcorn, *Zea mays* L. var. *in durate* (Sturt) Baileymut. *Everta* (Sturt). *Agronomy Journal*, 41:53-56.

Ferreira, C.M., Saluci, J.C.G., Vivas, M., Santos, J.S., de Andrade Junior, M.S., Vivas, J.M.S., Ramos, G.K.S., Graviana, G.A. (2024) Characterization of the *Bipolaris maydis*: symptoms and pathogenicity in popcorn genotypes (*Zea mays* L.). *Braz. J. Biol.*, 84:1-7. doi: 10.1590/1519-6984.256799. PMID: 35137841.

Freitas Jesus, I.L., Amaral Junior, A.T.do, Viana, A.P., Pena, G.F., Cabral, P.S., Vittorazzi, C., Silva, T.R.C. (2013) Ganho genético avaliado com índices de seleção e com REML/Blup em milho pipoca. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 48:1464-1471.

Gaut, B.S., D'ennequin, M.L.T., Peek, A.S., Sawkins, M.C. (2000) Maize as model for the evolution of plant nuclear genomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97:7008-7015.

Goodman, M.M. (1980) História e Origem do Milho. In: Paterniani, E. (Ed.). *Melhoramento e produção do milho no Brasil*. Campinas, Fundação Cargill, p.1-31.

Goodman, M.M., Smith, J.S.C. (1987) Botânica In: Paterniani, E., Viegas, G. P. (Ed.). *Melhoramento e produção de milho*. Campinas: Fundação Cargill, 1987, cap.1, 41-78p.

Hayman, B.I. (1958) The separation of epistatic from additive and dominance variation in generation means. *Heredity*, 12:371–390.

Holley, R.N., Goodman, M.M. (1989) New sources of resistance to southern corn leaf blight from tropical hybrid maize derivatives. *Plant Dis.*, 73:562-564.

Hoseney, R.C., Zeleznak, K., Abdelrahman, A. (1983) Mechanism of popcorn popping. *Journal of Cereal Science*, 1:43–52.

Hussain, H., Raziq, F., Khan, I., Shah, B., Altaf, M., Attaullah Ullah, W. et al. (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.

Jele, P., Derera, J., Siwela, M. (2014) Assessment of popping ability of newtropical popcorn hybrids. *Australian Journal of Crop Science*, 8: 831-839.

Jiang, T., Li, X., Li, T., Lin, G., Liu, H., Jin, D., Jiang, L. (2023) Ultra-Fast Wetting of the Fresh Popcorn. *Advanced Functional Materials*. 2213036. <https://doi.org/10.1002/adfm.202213036>.

Kaur, M., Vikal, Y., Kaur, H., Pal, L., Kaur, K., Chawla, J.S. (2019) Mapping quantitative trait loci associated with southern leaf blight resistance in maize (*Zea mays* L.). *J. Phytopathol.* 167:591-600.

Kist, B.B. Anuário Brasileiro do Milho. (2019) Editora Gazeta Santa Cruz: Santa Cruz, Brasil, 72pp.

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. doi: 10.1038/ng.747.

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. <https://doi.org/10.1007/s10658-020-02091-w>.

Kurosawa, R.N.F., Vivas, M., Amaral Junior, A.T.do, Ribeiro, R.M., Miranda, S.B., Pena, G.F., Leite, J.T., Mora, F. (2018) Popcorn germplasm resistance to fungal diseases caused by *Exserohilum turcicum* and *Bipolaris maydis*. *Bragantia*, 77: 36-47.

Kurosawa, R.N.F., Vivas, M., Júnior, A.T.A., Santos, A., Mafra, G.S., Guimarães, A. G. and Schwantes, I. A. (2016) Reaction of popcorn germplasm to polysora rust under field conditions and natural inoculation. *Tropical Plant Pathology*, 41:415-422. <https://doi.org/10.1007/s40858-016-0112-6>.

Li, E., Wang, L., Xie, Q., Gao, R., Su, Z., Li, Y. (2023) A novel deep learning method for maize disease identification based on small sample-size and complex background datasets. *Ecological Informatics*, 75:1-12.

Lima, V.J. De., Kamphorst, S.H., Pena, G.F., Leite, J.T., Vittorazzi, C., Filho, J.E.D.A., Mora, F. (2016) Combining ability of S₃ progenies for key agronomic traits in popcorn: comparison of testers in top-crosses. *Genet Mol Res.* 15(4): gmr15049319.

Lim, S.M., A.L. Hooker. (1976) Estimates of combining ability for resistance to *Helminthosporium maydis* race O in a maize population. *Maydica*. 21:121-128.

Mather, K., Jinks, J.L. (1984) Introdução à genética biométrica. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética. 242p.

Martins, L.B., Rucker, E., Thomason, W., Wisser, R.J., Holland, J.B., Balint-Kurti, P. (2019) Validation and characterization of maize multiple disease resistance QTL. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 9:2905-2912.

Martinez, A.S., Franzener, G., Stangarlin, J.R. (2010) Dano causado por *Bipolaris maydis* em *Panicum maximum* cv. Tanzânia. *Semina: Ciênc. Agrár.*, 31: 863-870.

Montesinos, E. (2003) Development, registration, and commercialization of microbial pesticides for plant protection. *International Microbiology*, 6:245-252.

Nihei, T.H., Ferreira, J.M. (2012) Análise dialélica de linhagens de milho com ênfase na resistência a doenças foliares. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 47:369- 377.

Negeri, A.T., Coles, N.D., Holland, J.B., Balint-Kurti, P.J. (2011) Mapping QTL controlling southern leaf blight resistance by joint analysis of three related recombinant inbred line populations. *Crop Sci.*,51:1571-1579. doi:10.2135/cropsci2010.12.0672.

Park, D., Allen, K.G., Stermitz, F.R., Maga, J.A. (2000) Chemical composition and physical characteristics of unpopped popcorn hybrids. *Journal of Food Composition and Analysis*, 13:921–934.

Pereira Filho, I.A., Pacheco, C.A.P., Cruz, J.C. (2010) A cultura do milho-pipoca. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 79, Coleção Plantar, 67.

Pan, C.X., Li, X. Li, B. Xu, M.Q. Qiu, L.Y. (2010) Disease and treatment of maize leaf spot, *Sci. Technol. China Rural Prosperity*, 12:54–55.

Peet, L.E., Marchetti, M.A. (1972) Effect of temperature and duration of growth period under controlled environment on infection of corn by *Helminthosporium maydis*. *Phytopathol.* 62.

POPCORN. (2020) Fatos da indústria. Disponível em: <<https://www.popcorn.org/Facts-Fun/Industry-Facts>>. Acesso em: 25 janeiro. 2023.

Raid, R.N. (1991) Fungicidal control of foliar sweet corn diseases in the presence of high inoculum levels. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 104:267–270.

Saluci, J.C.G., Vivas, M., Almeida, R.N., Dutra, I.P., Carlos, M.C., Amaral Junior, A.T., Scapim, C.A. (2020) Potential of popcorn S₄ lines for resistance to southern corn leaf blight. *F.P.B.J.*, 2:79-87.

Saluci, J.C.G., Vivas, M., Dutra, Í.P. De Almeida, R. N., Santos, J. S., Do Amaral Junior, A. T., Pelúzio, J. B. E. (2023) Sources of resistance to *Bipolaris maydis* in popcorn lines under field conditions. *European Journal of Plant Pathology*, 165:545-557. <https://doi.org/10.1007/s10658-022-02626-3>.

Savary, S., Willocquet, L., Pethybridge, S. J., Esker, P., Mcroberts, N., Nelson, A. (2019) The global burden of pathogens and pests on major food crops. *Nat. Ecol. Evol.*, 3:430-439.

Sawazaki, E. (2001) A cultura do milho-pipoca no Brasil. *O Agrônomo*, v.53:11-13.

Singh, R. Srivastava, R.P. (2012) Southern corn leaf blight-an important disease of maize: an extension fact sheet, *Indian research journal of extension, Education*, 1:334–337.

Sun, X., Qi, X., Wang, W., Liu, X., Zhao, H., Wu, C., Chang, X., Zhang, M., Chen, H., Gong, G. (2020) Etiology and Symptoms of Maize Leaf Spot Caused by *Bipolaris* spp. in Sichuan, China. *Pathogens*, 9:229. <https://doi.org/10.3390/pathogens9030229>.

Smith, D.R., Hooker, A.L. (1973) Monogenic chlorotic lesion resistance in corn to

Helminthosporium maydis. Crop Sci., 13:330-331.

Saluci, J.C.G., Vivas, M., Dutra, Í.P. de Almeida, R.N., Santos, J.S., do Amaral Junior, A.T., Peluzio, J.B.E. (2023) Sources of resistance to *Bipolaris maydis* in popcorn lines under field conditions. European Journal of Plant Pathology, 165:545–557. <https://doi.org/10.1007/s10658-022-02626-3>.

Savary, S., Willocquet, L., Pethybridge, S. J., Esker, P.; McRoberts, N., Nelson, A. (2019) The global burden of pathogens and pests on major food crops. Nat. Ecol. Evol., 3:430-439.

Sawazaki, E. (2001) A cultura do milho-pipoca no Brasil. O Agrônomo, v.53:11-13.

Schmidt, E.R., Cruz, C.D., Amaral, J.A.T., Cavatte, P.C., Nascimento, A.L. Delineamento genético: análise de gerações. In: Ferreira, A., Partelli, F.L., Amaral, J.A.T., Dalvi, L.P., Caldeira, M.V.W., Coelho, R.I. Tópicos especiais em genética e melhoramento. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2016. p. 115-129.

Senhorinho, H.J.C., Coan, M.M.D., Marino, T.P., Kuki, M.C., Pinto, R.J.B., Scapim, C.A., Holland, J.B. (2019) Genomic-wide association study of popping expansion in tropical popcorn and field corn germplasm. Crop Science, 59:2007–2019.

Singh, V., Sharma, N., Singh, S., (2020) A review of imaging techniques for plant disease detection. Artif. Intell. Agric. 4:229–242. <https://doi.org/10.1016/j.aiaa.10.002>.

Soylu, S., e Tekkanat, A. (2007) Interactions amongst kernel properties and expansion volume in various popcorn genotypes. Journal of Food Engineering, 80:336–341.

Thompson, D.L., Berquist, R.R. (1982) A source of resistance to *Helminthosporium maydis* rice O that prolongs monogenic chlorotic lesion resistance in corn. Phytopathology, 72:11-40.

Thurrow, L.B., Castro, C.M., Pereira, A. S. (2018) Melhoramento de plantas visando à resistência a patógenos. In: Dallagnol, L.J., (org.) Resistencia genética de plantas a

patógenos. Pelotas: UFPel, p.65-102.

Ullstrup, A.J. (1972) The impacts of the southern corn leaf blight epidemics of 1970–1971. *Annu. Rev. Phytopathol.* 10:37–50.

Vieira, R.A., Scapim, C.A., Tessmann, D.J., Ferreira, F.R.A., Vivas, M., do Amaral Júnior, A.T.A. (2016) Nonparametric approach to selection popcorn hybrids to resistance to foliar diseases. *Científica*, 44:2:165-169. doi:10.15361/1984-5529.2016v44n2p165-169.

Vieira, R.A., Scapim, C.A., Tessmann, D.J., Hata, F.T. (2011) Diallel analysis of yield, popping expansion, and southern rust resistance in popcorn lines. *Revista Ciência Agronômica*, 42: 774-780. <https://doi.org/10.1590/S1806-66902011000300025>.

Wei, J., Lui, K., Chen, J., Luo, P., Leestadelmann, O.Y. (1988) Pathological and Pphysiological identification of race *C* of *Bipolaris maydis* in China. *Phytopathology*, 78:550-554.

Ye, Y.F. Li, Q.Q. Fu, G. Yuan, G.Q. Miao, J.H. Lin, W. (2012) Identification of antifungal substance (Iturin A2) produced by *Bacillus subtilis* B47 and its effect on Southern corn leaf blight. *J. Integr. Agric.*, 11:90–99.

Zandoná, C., Novaes, T.G., Mehta, Y.R., Schuster, I., Teixeira, E.A., Cunha, H. (2006) Herança de resistência à *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* em algodoeiro brasileiro. *Fitopatologia Brasileira*. 31: 76-78. <https://doi.org/10.1590/S0100-41582006000100013>.

Zhao, Y., Lu, X., Liu, C., Guan, H., Zhang, M., Li, Z., Cai, H., Lai, J. (2012) Identification and fine mapping of *rhm1* locus for resistance to southern corn leaf blight in maize. *Journal of Integrative Plant Biology* 54: 321–329.

Ziegler, K.E., Ashman, B. (1994) Popcorn In “Speciality Corns”. Edited By Hallauer. AR Crc. Press., 21: p89.

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